Zentralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschließlich der Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, sowie Tierkrankheiten (ausschließlich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

herausgegeben von

Oberregierungsrat Dr. C. Stapp
Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19

96. Band

Mit 60 Abbildungen im Text und 6 Tafeln

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1937

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 96. No. 1|4.

Ausgegeben am 8. März 1937.

Der bakterielle Stengelbrand der Erbsen.

[Aus der mikrobiologischen und chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt fur Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem.]

Von **C. Stapp.**

Mit 7 Abbildungen im Text.

Im Jahre 1915 wurde in Nordamerika, und zwar im Staate Colorado, erstmalig eine Erkrankung junger Gartenerbsen (Pisum sativum) beobachtet, die, wie W. G. Sackett (21) feststellen konnte, durch Bakterien verursacht worden war. Im gleichen Jahre trat dieselbe Krankheit auch an Felderbsen (Pisum arvense) auf. Sackett, der 1916 eine genauere Beschreibung der Symptome dieser Krankheit und auch ihres Erregers gegeben hat, nannte letzteren, da er mit keinem der bisher bekannten in seinem kulturellen und pathologischen Verhalten identisch war, Pseudomonas pisi. Später wurde dann über das Auftreten dieser Krankheit an Feld- und Gartenerbsen auch aus anderen Staaten Nordamerikas sowie aus einigen europäischen Ländern berichtet. Während Sackett nur den Befall an Stengeln, Blättern und Stipeln beobachten konnte, wies C. A. Ludwig (16) nach, daß Pseud. pisi auch die Ursache einer Fleckenkrankheit der Früchte (Hülsen) sein konne.



Abb. 1. Bakterieller Stengelbrand an Erbsen. Kunstliche Infektion am 1. 7. 1935. Sorte P.S.G., große gelbe Kreuzungserbse 2037. Aufgenommen am 16. 7. 1935. Etwa $^{4}/_{1}$ naturlicher Große.

Im Juni 1934 wurde zum ersten Male in Deutschland eine Erkrankung an einer Erbsenkreuzung, die im Freiland auf sandigem Boden stand, bekannt. Die Krankheitserscheinungen hatten eine auffallende Ähnlichkeit mit dem von Sackett und anderen beschriebenen bakteriellen Stengelbrand der Erbsen. Die mikroskopische Untersuchung ließ keinen Zweifel daran, daß als Erreger auch ein Bakterium in Frage kam. Merkwürdig war, daß sich diese Bakteriose nur auf die genannte Kreuzungszüchtung beschränkte, während die Eltern „Schurigs Frühe" (ehemals aus der

Sorte „Buchsbaum“ hervorgegangen) und „Grünbleibende Schnabel“ völlig gesund waren und auch zu späterer Jahreszeit nicht erkrankten, ebenso wie eine Reihe anderer Sorten, obwohl sie alle in der Nähe der kranken angebaut waren. Der Befall dieser Neuzuchtung war trotz des sehr trockenen Frühsommers recht bedeutend, bei genauerer Durchsicht erwiesen sich weit mehr als 50 % erkrankt.

Äußeres Krankheitsbild.

Die auffallendsten Symptome an jungen Pflanzen sind längliche Flecke von wasserdurchtränktem olivgrünen bis olivbraunen oder manchesmal auch dunklerem, fast schwarzen Aussehen, die vorwiegend an den Insertionsstellen der Blattstiele zu finden sind und sich über geringere oder größere Strecken des Stengels ausdehnen können, zuweilen ist auch der ganze Stengel oder es sind einzelne Seitentriebe verfärbt (s. Abb. 1 u. 2). Die Stipeln und die Fiederblättchen zeigen, sofern sie ebenfalls befallen sind, meist anfänglich mehr gelbliche, dann bräunlich werdende Verfärbungen (s. Abb. 3). Während alle oberirdischen Teile einer Pflanze befallen werden können, sind die Wurzeln häufig gesund. Die Krankheit verbreitet sich an jungen Pflanzen unter besonders günstigen Bedingungen sehr schnell, es kommt dann sehr bald zu Absterbe- und Eintrocknungserscheinungen, und die toten Pflanzen zeigen ein gleichmäßig braunes Aussehen. Es kann auch beobachtet werden, daß am unteren noch nicht infizierten Stengelteil neue Austriebe entstehen, die längere Zeit gesund bleiben, während der ganze obere ältere Pflanzenteil oder auch obere stark kranke Seitentriebe absterben. Häufiger war auch zu beobachten, daß trotz deutlicher Verfärbungen der Stengel und teilweiser Absterbeerscheinungen von Seitentrieben die Spitzen normal grün blieben, blühten und auch Früchte ansetzten und diese zuweilen zur Reife brachten. Nicht selten erkrankten aber auch die Infloreszenzen, ebenso die Früchte; auf letzteren entstanden Flecke, die anfänglich eine gewisse Ähnlichkeit hatten mit den sog. Fettflecken, wie sie an Bohnenfrüchten durch P s e u d. m e d i c a g i n i s var. p h a s e o l i c o l a hervorgerufen werden (s. Abb. 4). Diese zunächst glasig wasserdurchtränkt und etwas dunkler aussehenden rundlichen oder früh ineinanderfließenden Flecke werden aber bald braun und besitzen an völlig ausgereiften Hülsen schließlich eine papierartige Beschaffenheit.



Abb. 2. Bakterieller Stengelbrand an Erbsen Künstliche Infektion bei a und b am 2. 7. 1935, aufgenommen am 22. 7. 1935. Sorte Grünbleibende Schnabel. Etwa $^1/_1$ natürlicher Größe.

Es ist übereinstimmend festgestellt worden, daß in den meisten Fällen die stärksten Symptome an den unteren älteren, nur wenige Zentimeter über der Bodenoberfläche befindlichen Pflanzenteilen gefunden werden, woraus geschlossen wird, daß die Primärinfektion vorwiegend an diesen Stellen erfolge. Relativ selten kommt es vor, daß die Fiederblätter erkrankt sind, ohne daß auch gleichzeitig Stengelsymptome sich zeigen.



Abb. 3. Bakterieller Stengelbrand an Erbsen. Spontaninfektion an Fiederblättern und unterem Blattstiel. Aufgenommen am 15. 6. 1934. Etwa ²/₃ natürlicher Größe.

Es scheint eine Besonderheit dieser Krankheit zu sein, daß trotz völlig glasig erscheinender und verfärbter Stengel der Turgordruck des Gewebes noch so hoch ist, daß es nicht oder selten zu einer richtigen Welke und einem Zusammenfallen der Pflanze kommt, wie es sonst bei Stengelnaßfäulen so zarter Pflanzen üblich ist.

Bei feuchtem Wetter kann aus den kranken Pflanzenteilen schmutzig-weißer bis blaß-gelblicher Bakterienschleim abgesondert werden, der besonders deutlich an den Stengeln und Früchten zu sehen ist und nach dem Eintrocknen als weißlicher Überzug über den kranken Stellen erscheint.

Das außerordentlich trokkene Wetter des Juni 1934 in dem Schadgebiet hatte im Gegensatz zu den Beobachtungen von Harter, Zaumeyer und Wade (9) keinen Stillstand im Fortschreiten der Erkrankung gebracht.

In stark erkrankten Früch-



Abb. 4. Bakterieller Stengelbrand an Erbsen. Spontaninfektion an Erbsenfrüchten. Aufgenommen am 15. 6. 1934. Etwa natürliche Größe.

ten geht die Fäule durch den Funiculus auch auf die Samen über, und die Bakterienausscheidung im Innern der Hülse kann so reichlich sein, daß die Samen ganz in Schleim eingebettet liegen. Zuweilen findet man am Samen selbst Flecken, die vorwiegend in der Nähe des Hilum auftreten.

Inneres Krankheitsbild.

Auf Querschnitten durch Stengelstücke erkrankter Pflanzen, die äußerlich die Krankheitssymptome zeigen, findet sich nicht nur ein Teil der Gefäße (selten alle) angefüllt mit Bakterien, sondern auch im parenchymatischen Gewebe und ebenso im Mark lassen sich große Mengen von Bakterien nachweisen. Ein Teil der Zellwände ist zumeist zerstört und die Gewebskavernen sind ausgefüllt mit einer dünnschleimigen Bakterienmasse. Werden Stengelstücke untersucht, die zwischen zwei äußerlich erkennbaren „Krankheitsherden" liegen, selbst aber noch keine äußeren Symptome zeigen, so ist der Bakterienbefall hier mehr oder weniger deutlich auf die Leitbündel beschränkt. Bei frischen Stomatal-Infektionen erfolgt die Bakterien-Invasion des Gewebes zunächst durch die Interzellularen, es kommt aber sehr bald zu Intrazellular-Infektionen und einer teilweisen Auflösung der Zellwände des Rindengewebes oder bei den Blättern des Schwammparenchyms.

Geographische Verbreitung der Krankheit.

Wie einleitend erwähnt, wurde die Krankheit zuerst 1915 von Sackett im Staate Colorado, dann auch in Nebraska, Süd-Dakota und Utah festgestellt. Jennison (10) berichtete über ihr Auftreten in Montana, Ludwig (16) in Süd-Karolina, Jones und Linford (11) in Wisconsin, Chrosby und Chupp (6) in New York, Brown und Evans (1, 2) in Arizona, Miller (17) in Nord-Georgien, Harter und Zaumeyer (8) in Wyoming. Sie ist weiter aufgetreten in Indiana, Michigan, Oregon und Pennsylvania (27). Nach Elliott (7) ist sie in den zentralen und östlichen Staaten von Nordamerika ganz allgemein verbreitet. Linford (15) gibt an, sie in 15 nordamerikanischen Staaten beobachtet zu haben. Noble (18) hat sie in Neu-Südwales, Christoff (5) in Bulgarien, Kern (12) in Ungarn festgestellt. Sie soll auch in Frankreich (20) aufgetreten sein. Ob sie in England vorkommt, ist noch nicht sicher [s. Lacey (14), Ogilvie (19), Cayley (4)] [1]).

Umfang des Schadens.

Soweit Angaben über die Höhe der Schäden, die durch diese Krankheit verursacht werden, vorliegen, sind sie sehr voneinander abweichend. Jennison (10) schätzte den Ernteausfall im Südwesten Montanas im Jahre 1918 auf 25%, Linford (15) fand zwar auf 61 Feldern (18,5% der besichtigten) die Erbsen erkrankt, in Idaho und Montana, wo die Erkrankung am stärksten

---

[1]) Dorothy M. Cayley (4) berichtete 1917 über eine „Bacterial disease of Pisum sativum" in England, nachdem von ihr 1912 darüber bereits eine kurze Mitteilung veröffentlicht war. An einer der Arbeit von 1917 beigegebenen Abbildung (Taf. IV, Fig. 2) läßt sich erkennen, daß die Stengelsymptome mit denen des „bakteriellen Stengelbrandes" übereinstimmen konnten. Mit Sicherheit ist aber nicht mehr zu entscheiden, ob beide Bakteriosen identisch sind. Dagegen ist mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß der von ihr Pseudomonas seminum benannte „Erreger" gar nicht existiert, denn es muß auch an dieser Stelle wieder betont werden: In allen Fällen, in denen Sporenbildner als pflanzenpathogene Bakterien bisher beschrieben sind, hat sich, sofern Nachprüfungen möglich waren, herausgestellt, daß die Angaben unzutreffend waren.

auftrat, schätzt er die Schäden aber doch nur auf 1—5%. Ebenso geben Harter und Zaumeyer (8) auf Feldern, die bis 100% Befall aufwiesen, die durchschnittlichen Ernteverluste mit etwa 5% an, während in demselben Jahre die gleichen Autoren zusammen mit Wade (9) auf 25—30% kommen. Ludwig (16) spricht von „sehr ernsten" Ernteausfällen in Südkarolina in den Jahren 1924 und 1925, Sackett (22) von starken Keimschädigungen der Erbsensaat im Jahre 1917 in Colorado. Aus dem einen Fall in Deutschland lassen sich naturgemäß noch keine sicheren Schadenshöhen ableiten; es ist aber mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß sie mehr als 5% betragen haben und bei ungünstiger Witterung sicher noch erheblich höher gelegen haben würden.

Die Isolierung des Erregers.

Um die Bakterien aus den kranken Pflanzen zu isolieren, wurde in der üblichen Weise verfahren; als Nährsubstrat wurde sowohl Bouillon- als auch Kartoffel-Agar verwendet. Von den zahlreichen Reinkulturen wurden, nachdem sie an Erbsen auf ihre Pathogenität geprüft worden waren, 7 Stämme ausgewählt, die stets für die späteren Untersuchungen verwendet worden sind. Es handelt sich bei diesen um:

Stamm E 4 aus Erbsenstengel isoliert
„ E 5 „ „ „
„ E 7R aus Erbsenblatt „
„ E 8 aus Erbsenfrucht „
„ E 9R aus Erbsenstengel „
„ E 10 aus Erbsenblatt „ und
„ E 10R aus Erbsenblatt „

Das R hinter der Stammzahl besagt, daß diese Kulturen, zum Unterschied von denen ohne R, als typische Rauhformen anzusprechen waren. Alle Stämme wurden auf Kartoffel-Agar fortgezüchtet.

Beschreibung des Erregers.

Sackett hat zwar 1916 eine ziemlich eingehende Beschreibung der von ihm benannten Pseud. pisi gegeben, doch weichen die Ergebnisse meiner mit den aus obigem Material gezüchteten Stämme in einigen nicht unwesentlichen Punkten von denen Sacketts ab, weshalb hier auf diese abweichenden Befunde und auf die ergänzenden Untersuchungen etwas näher eingegangen sei.

Morphologie und Zytologie.

Größe der Stäbchen: Nach Sackett schwankt die Länge der Stäbchen zwischen 1,11 und 3,28 μ und die Dicke zwischen 0,58—0,82 μ, die meisten vegetativen Zellen sollen 2,26 μ lang und 0,68 μ dick sein.

Je nach Substrat zeigen sich bei meinen Messungen Verschiedenheiten. Die benutzten Kulturen hatten 48 Std. bei 26° C gestanden.

Auf Bouillon-Agar:	0,8—3,4 × 0,5—1,4 μ
	meist 1,2—2,2 × 0,6—1,0 μ
Auf Kartoffel-Agar:	0,8—5,2 × 0,5—0,7 μ
	meist 1,0—1,8 × 0,6 μ
Auf Möhren-Agar:	0,8—4,6 × 0,5—1,0 μ
	meist 1,2—2,0 × 0,5—0,7 μ.

Begeißelung: Stamm E 5 zeigte auf Würze-Agar bis zu 5, meist jedoch 2—3 Geißeln an einem Pol, zuweilen waren auch Geißeln an beiden

Polen inseriert. Stamm E 8 ließ auf Asparagin-Glyzerin-Agar meist nur 1—2 polständige Geißeln erkennen. Nach Sackett soll Pseud. pisi nur eingeißelig sein.

Involutionsformen sind von Sackett nicht beobachtet worden. Meine Stämme zeichneten sich aber gerade durch besonders leichte Bildung von Involutionsformen aus. So fällt z. B. auf, daß Stäbchen einer 48 Std. alten Bouillon-Agarkultur sehr häufig mehr oder weniger stark bauchig angeschwollen waren. Es konnten auf diesem Substrat Zellen beobachtet werden, die in der Mitte fast kugelig aufgetrieben waren, deren Enden aber die Stabchenformen behalten hatten. Diese involutiven Veränderungen waren auch nach 14 Tagen noch festzustellen. In Bouillon-Hängetropfen waren nach 3—6 Tagen blasige Anschwellungen der Zellfäden erkennbar, und es kam vereinzelt zu großen Kugelbildungen, die vielfach an den Enden der Fäden, zuweilen auch in der Mitte entstanden, oder der ganze Faden zeigte ein perlkettenartiges Aussehen. Die Kugeln färbten sich, soweit sie kleiner waren, mit Methylenblau intensiv blau, die großen zeigten häufig nur einen einseitigen Wandbelag von Plasma.

Auch bei Verwendung von Ammoniumchlorid und teilweise auch von Natriumnitrat als Stickstoffquelle in künstlichem Substrat (s. S. 7) traten stärkere Teratologien auf.

Bei 35° C zeigten 10—12 Tage alte Kartoffel-Agarkulturen sehr starke Teratologien. Besonders deutlich reagierten in dieser Hinsicht Stamm E 7, E 8 und E 10. Es zeigten sich Birnen-, Zitronen- und Kugelformen sowie dicke Stäbchen mit homogenem und auch solche mit stark differenziertem Plasma.

Reservestoffe: In 2—10tägigen Kulturen waren Fett, Glykogen oder Jogen in keinem Falle nachweisbar. Volutin ließ sich auch nur in vereinzelten Zellen und hier nur in geringer Menge, z. B. bei Kulturen von Bouillon-, Kartoffel- und Möhren-Agar zum Nachweis bringen.

Kulturelle Eigenschaften.

Auf Bouillon-Agar waren die Beläge nach 48 Std. dünn, stark transparent, weißlich, sich vom Substrat nicht sehr deutlich abhebend. Beim Abnehmen mit der Nadel fiel die zähe fadenziehende Konsistenz der Kultur auf. Im Laufe der nächsten 6—14 Tage wurden die Beläge nicht wesentlich stärker.

Auf Kartoffel-Agar waren die weißlichen Beläge zwar etwas deutlicher, aber auch nicht dick. Die Transparenz war etwas geringer.

Auf Möhren-Agar wuchs die Kultur ein wenig stärker, keineswegs üppig, die Beläge waren weißlich, glänzend, schleimig aussehend und von butterartiger Konsistenz. Im Alter nahm die anfangs schwache Transparenz noch etwas zu.

Auf Würze-Agar zeigte von 7 geprüften Kulturen nach 48 Std. noch keine Wachstum. Nach weiterem 4tägigen Stehen bei Zimmertemperatur war bei E 5 auf der unteren Schrägfläche etwa bis 1 cm Höhe ein weißlicher, glänzender Belag zu sehen. Bei der mikroskopischen Kontrolle war eine außerordentlich starke Eigenbewegung dieser Kultur zu beobachten, alle Stäbchen schwärmten lebhaft. Einige Tage später begann die Entwicklung in der untersten Kuppe der Röhrchen auch bei den Stämmen E 4, E 8, E 9_R und E 10_R.

Auf Asparagin-Glyzerin-Agar waren nach 48 Std. mittelstarke, weißlich glänzende, aber nicht schleimig aussehende, etwas transparente Beläge gebildet. Alle Röhrchen zeigten Fluoreszenz, wenn auch je nach Stamm verschieden stark: am deutlichsten war die Fluoreszenz bei Stamm E 9_R.

In Bouillon verhielten sich die Stämme etwas abweichend. Nach 8 Tagen war in den Röhrchen mit Stamm E 7_R, E 8 und E 10 nur eine sehr schwache mit E 4. E 5, E 9_R und E 10_R aber eine deutliche Trübung zu verzeichnen, nach 14 Tagen war bei den Stämmen E 4, E 5, E 7_R, E 9_R und E 10_R die Trübung deutlich und der Beginn der Bildung eines Oberflächenhäutchens erkennbar. E 10 hatte bereits ein deutliches Oberflächenhäutchen gebildet; bei E 8 war nur ein deutlicher Bodensatz und eine beginnende Klärung der Bouillon festzustellen, Oberflächenwachstum oder Randbelag war hier auch nach 4 Wochen nicht nachweisbar. In Bouillon mit Zusatz bis zu 3,75% NaCl trat noch mit allen Stämmen deutliche Trübung des Substrates ein, während Sackett bei diesem Chlorid-Zusatz keine Entwicklung mehr beobachten konnte. Selbst bei 4% NaCl war die entwicklungshemmende Konzentration noch nicht erreicht.

Gelatine wurde von allen Stämmen, aber unterschiedlich schnell, verflüssigt, Stamm E 8 erst von der fünften Woche an.

In Milch trat die Koagulation ebenfalls verschieden schnell auf. Die Stämme E 5 und E 10_R hatten nach 6 Tagen deutlich, E 9_R und E 10 erst ganz schwach, E 4, E 7_R und E 8 noch gar nicht koaguliert. Nach 4 Wochen war in einigen Röhrchen schon deutliche Peptonisierung zu beobachten, während E 8 eben erst Koagulation zeigte.

In Lackmusmilch wurde der Lackmusfarbstoff vorübergehend entfärbt, mit fortschreitender Peptonisation trat eine immer deutlicher werdende Blau- bzw. Blaugrünfärbung infolge gleichzeitig auftretender Fluoreszenz ein[1]).

In Cohns Lösung trat in Übereinstimmung mit den Angaben von Sackett kein Wachstum ein.

In Uschinskys Lösung fand aber, entgegen den Angaben von Sackett, doch Entwicklung statt. Nach etwa 6 Wochen war in allen Röhrchen deutliche Trübung zu verzeichnen, teilweise war auch ein schwacher Randbelag, jedoch kein Oberflächenhäutchen gebildet.

In Fermis Lösung war bereits nach 48 Std. Entwicklung zu erkennen, es bildete sich bei allen Stämmen, außer E 10, ein Oberflächenhäutchen, und die Nährlösungen zeigten in diesen Röhrchen deutliche Fluoreszenz.

An Stickstoffverbindungen vermochten die Erbsenbakterien zu verwerten: Pepton, Asparagin und Leuzin gut; bei Darreichung von Ammonnitrat, Ammonchlorid und -sulfat entstanden sehr transparente. dünne, gleichmäßige Beläge, bei Kalium- und Natriumnitrat, Tyrosin, α-Alanin, Glykokoll und Harnstoff entwickelten sich einzelne Stämme verhältnismäßig kräftig, andere nur schwach. Mit Harnstoff als N-Quelle, die nach Sackett für Pseud. pisi nicht verwertbar sein soll, zeigten alle von mir geprüften Stämme schwache bis deutliche Fluoreszenz. Hexamethylentetramin kommt für Pseud. pisi als Stickstoffquelle nicht in Frage.

[1]) Daß Skoric (23) in Milch und Lackmusmilch keine Koagulation mit seinen Stämmen erzielen konnte, sei der Vollständigkeit halber erwähnt. Eine Erklärung für diesen negativen Ausfall kann jedoch nicht gegeben werden.

Als Nährsubstrat für diese Versuche wurde das folgende verwandt:

Magnesiumsulfat	0,05%
Kaliumchlorid	0,1%
Sek. Kaliumphosphat	0,1%
Glyzerin	1,0%
Agar	2,0%
Asparagin	0,2%

oder andere Stickstoffverbindungen, deren N-Gehalt dem von 0,2% Asparagin entsprach.

Für die Prüfung auf Verwertbarkeit der verschiedenen Kohlenstoffverbindungen wurde das gleiche Substrat benutzt, aber nur 1% Agar an Stelle von 2% und jeweils 1% der C-Quellen an Stelle von Glyzerin. Gleichzeitig wurde eine Nährlösung verwandt in derselben Zusammensetzung. aber ohne Agar.

Als C-Quellen wurden untersucht: Glukose, Fruktose, Saccharose, Maltose, Galaktose, Arabinose, Xylose, Glyzerin, Mannit, Erythrit, essigsaures, milchsaures, weinsaures und zitronensaures Natrium. Verwertbar waren alle bis auf das Natriumzitrat: in den Medien mit diesem Salz, so wurde am Ende der Versuche festgestellt, war die Reaktion der Kontrollröhrchen stark alkalisch (p_H = 9,2—9,5), so daß dies die Ursache der Entwicklungshemmung sein konnte (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1. Einfluß der Reaktion auf die Entwicklungsstärke der Erbsenbakterien.

Ausgangs-p_H	Stamm E 5			Stamm E 7R			Stamm E 8		
	Wachstumsstärke		End-p_H	Wachstumsstärke		End-p_H	Wachstumsstärke		End-p_H
	nach 5 Tagen	nach 21 Tagen		nach 5 Tagen	nach 21 Tagen		nach 5 Tagen	nach 21 Tagen	
9,5	(+)	+	9,2	(+)	+	8,9	(+)	+	9,0
9,25	(+)	+	8,95	(+)	+	8,65	(+)	+	8,9
9,06	(+)	+	8,75	(+)	+	8,41	(+)	+	8,7
8,7	+	+	9,4	+	+	9,58	+	++	9,4
8,68	+	+	9,35	+	++	9,45	+	++	9,25
8,2	+	+	9,25	+	++	9,3	+	++	9,2
8,0	++	++	9,2	++	++	9,15	++	++	9,15
7,85	++	++	9,15	++	++	9,1	++	++	9,12
7,76	++	++	9,1	++	++	9,04	++	+++	9,09
7,35	++	++	9,05	++	++	9,02	+++	+++	9,05
7,22	++	++	9,0	++	++	9,0	+++	+++	9,0
6,9	+++	+++	8,88	+++	+++	8,91	++++	++++	8,45
6,6	+++	+++	8,91	+++	+++	8,78	++++	++++	8,85
6,35	+++	+++	8,95	+++	+++	8,88	++++	++++	8,75
6,1	+++	+++	8,82	+++	+++	8,9	++++	++++	8,7
5,75	+++	+++	8,72	+++	+++	8,06	++++	++++	8,65
5,55	++	+++	8,55	++	+++	7,92	++++	++++	8,25
5,1	++	+++	8,45	++	+++	7,1	+++	++++	8,0
4,8	+	+	5,85	+	++	5,4	++	++	6,9
4,4	+	+	5,25	+	+	4,9	+	++	6,6
3,9	(+)	+	4,75	+	+	4,45	(+)	+	4,45
3,7	(+)	+	4,55	(+)	+	4,2	(+)	+	4,25
3,3	(+)	+	4,12	(+)	+	3,8	(+)	+	3,85

Es bedeuten: (+) = äußerst geringe, + = geringe, ++ = mäßige, +++ = gute und ++++ = sehr gute Entwicklung.

Biochemische und physikalische Eigenschaften.

Säure wurde gebildet aus Glukose, Fruktose, Saccharose, Arabinose und Xylose, aber im Gegensatz zu den Befunden Sacketts von keinem der Stämme aus Galaktose.

Gasbildung war in Übereinstimmung mit den Angaben von Sackett niemals zu beobachten.

Kardinalpunkte der Temperatur. Das Temperatur-Optimum für die Entwicklung von Pseud. pisi lag zwischen 28 und 30° C, das Maximum zwischen 35,5 und 36,5° C, während das Minimum bei 0° C noch nicht erreicht war.

Kardinalpunkte der Reaktion. Wenn Sackett angibt, die Säuretoleranz sei gering, so zeigt die Tab. 1 klar, daß die Erbsenbakterien sowohl eine sehr saure als auch eine alkalische Reaktion vertragen. Die 3 hier aufgeführten Stämme vermochten sich z. B. noch bei einem Ausgangs-p_H von 4,4 innerhalb von 5 Tagen deutlich zu entwickeln, die Entwicklung wurde jedoch in der Folgezeit nicht stärker. Selbst bei p_H 3,3 war nach 5 Tagen noch eine ganz minimale Trübung festzustellen, das Wachstum wurde im Laufe der nächsten 14 Tage deutlich, wenn auch nicht gut. Bei p_H 5,5 zeigte Stamm E 8 noch nicht die geringste Entwicklungshemmung. Das Optimum für die Entwicklung liegt für alle Stämme mehr im sauren Bereich. Bei p_H 7,2 war schon eine deutliche Wachstumsverminderung feststellbar, bei p_H 8,2 war sie auffallend stärker, bei p_H 9,5 war das Maximum aber noch nicht erreicht.

Beachtenswert ist die Tendenz der Bakterien, die ursprüngliche Reaktion, soweit dies durch stärkere Entwicklung möglich ist, in alkalischer Richtung zu verschieben. So vermochte Stamm E 5 im Substrat die Ausgangsreaktion von p_H 5,1 nach 21 Tagen auf p_H 8,45 zu erhöhen, andererseits aber auch die an sich schon alkalische Anfangsreaktion von p_H 7,2, ebenso wie die beiden anderen Stämme, auf p_H 9,0 zu bringen.

Die Versuche wurden in Kartoffelsaft durchgeführt, dem entsprechende Mengen Natriumkarbonat bzw. Phosphorsäure zugesetzt waren. Bebrütet wurde bei 26° C. Gemessen wurde elektrometrisch mit dem Trénelschen Azidimeter.

Der thermale Tötungspunkt, in etwas anderer Weise bestimmt als es in Amerika üblich ist (24), lag für die einzelnen Stämme nur wenig verschieden; er schwankte zwischen 48 und 50°. Diese Werte zeigen also gute Übereinstimmung mit denen Sacketts, der 49—50° angibt.

Nitrat wird nach Sackett innerhalb 5 Tagen bei 28° nicht reduziert. Mit 5 Stämmen durchgeführte Nachprüfungen ergaben, daß zunächst die Reduktion schwach, nach 6—8 Tagen aber deutlich war.

Diastase. Eine diastatische Wirkung wird Pseud. pisi von Sackett abgesprochen. Auf Kartoffel-Agar + 1% Stärke war aber bei allen 7 Stämmen die Fähigkeit der Stärkehydrolysierung deutlich erkennbar. Es stimmt dieses Ergebnis mit dem von Skoric (23) überein, der mit 12 Stämmen Hydrolyse bekam.

Indolbildung konnte in Übereinstimmung mit Sackett auch von mir bei den 7 Stämmen nicht nachgewiesen werden.

Ebenso läßt sich das streng aerobe Wachstum der Erbsenbakterien bestätigen. In Kartoffel-Agar (in hoher Schicht in Röhrchen), dessen unteres Drittel mit den Bakterien beimpft war, trat selbst im Laufe von 8 Wochen keine Entwicklung ein. Wurde der Versuch unter streng anaeroben Bedingungen in Schalen mit Kartoffel-Agar durchgeführt, wobei

der Sauerstoff durch ein Pyrogallol-Kieselgur-Kaliumkarbonat-Gemisch nach der etwas modifizierten Methode von Koch (13) entfernt wurde, so blieb das Ergebnis das gleiche. Wurden die letzteren Kulturen nach etwa 16—17 Tagen wieder unter aeroben Bedingungen stehen gelassen, so trat kein Wachstum mehr ein, ein Zeichen, daß der völlige O_2-Entzug die Bakterien zum Absterben gebracht hatte.

Von Pseud. pisi, wie sie von Sackett beschrieben ist, weichen die von mir aus Erbsen isolierten Stämme ab durch

1. die Verschiedenheit in den Größenverhältnissen der Stäbchen auf den verschiedenen Substraten,
2. die höhere Zahl polarer Geißeln,
3. die starke Neigung zur Teratologie,
4. die Speicherung geringer Mengen von Volutin,
5. die unterschiedliche Entwicklung in Bouillon,
6. die höhere Salzfestigkeit,
7. die Fähigkeit, in Uschinskys Lösung zu wachsen,
8. die Fähigkeit, auch Harnstoff als N-Quelle verwerten zu können,
9. das Unvermögen, aus Galaktose Säure zu bilden,
10. die hohe Säuretoleranz (das Wachstums-Optimum liegt sogar im sauren Bereich!),
11. die Fähigkeit, Nitrat zu reduzieren und
12. das Vermögen der Stärkehydrolisation.

Zur sicheren Entscheidung, ob trotzdem die von mir gezüchteten Stämme mit Pseud. pisi Sackett identisch sind, wäre eine Vergleichsprüfung mit dem Sackettschen Originalstamm erforderlich. Dieser existiert aber nach Angaben von Ludwig (16) nicht mehr. Da jedoch in mehreren wesentlichen Punkten, wie später gezeigt wird auch im pathologischen Verhalten, Übereinstimmung herrscht, wird von mir die Identität von Pseud. pisi mit den hier untersuchten Erbsenbakterien als bestehend angesehen.

Serologisches Verhalten.

Es sollte auf serologischem Wege erstens festgestellt werden, ob die verschiedenen aus krankem Material isolierten Erbsenbakterien-Stämme untereinander völlig identisch sind — bekanntlich verhalten sich die verschiedenen Stämme von Pseud. tumefaciens und auch die von Bact. phytophthorum serologisch verschieden — und zweitens ob sie irgendwelchen anderen fluoreszierenden pflanzenpathogenen Bakterien nahestehen oder etwa mit ihnen übereinstimmen. Für diese Versuche wurden 6 Stämme der Erbsenbakterien herangezogen, ferner:

Stamm VIII von Pseud. medicaginis var. phaseolicola, dem Erreger der Fettfleckenkrankheit der Bohnen,
„ C 7 von Pseud. tabaci, dem Erreger des Wildfeuers beim Tabak,
„ 1 von Pseud. intybi, dem Erreger einer Salatfäule,
„ 1 und Stamm Lipstadt I von Pseud. syringae, dem Erreger der Fliederseuche und der Chrysanthemenbakteriose,
„ III_2 und Stamm 4 von Pseud. lachrymans, dem Erreger der „Eckigen Blattflecken"-Krankheit der Gurken.

Aus den Agglutinationsversuchen (vgl. Tab. 2 u. 3) ergibt sich, daß die Erbsenbakterien untereinander keine wesentlichen Verschiedenheiten zeigen und daß sie andererseits dem Erreger der Fettfleckenkrankheit der Bohnen und auch dem Erreger des Wildfeuers von Tabak verwandtschaftlich

Tabelle 2. Agglutinationsversuch mit Kaninchenserum von Stamm 10 der Erbsenbakterien.

Verdünnung	Pseudomonas pisi						Pseud. med. var. phas.	Pseud. tabaci	Pseud. intybi	Pseud. syringae		Pseud. lachrym.
	St. 10	St. 4	St. 5	St. 7R	St. 8	St. 9R	St. VIII	St. C 7	St. 1	St. 1	St. Lipst. I	St. 4
1: 50	++++[1])	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	0	+++	0	0
1: 100	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	0	++	0	0
1: 200	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	allmählich abnehmende fädige Agglutination	0	+	0	0
1: 400	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++		0	+	0	0
1: 800	++++	++++	++++	++++	++++/+++	++++/+++	++++		0	(+)	0	0
1: 1000	++++	++++	+++	++++/+++	++++/+++	++++/+++	++++		0	0	0	0
1: 2000	+++	+++	++	+++/++	+++	+++	++++/+++		0	0	0	0
1: 3000	+++/++	+++/++	++/+	++	++/+	+++/+	+++/++		0	0	0	0
1: 5000	++	++/+	+	++/+	+	++/+	++	0	0	0	0	0
1: 8000	++/+	++/+	−	+	+	++/+	+	0	0	0	0	0
1: 10 000	++/+	+	+	−	+	+	+	0	0	0	0	0
Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 3. Agglutinationsversuch mit Kaninchenserum vom Stamm VIII der Pseud. medicaginis var. phaseolicola.

Verdünnung	Pseud. med. var. phas.	Pseudomonas pisi						Pseud. tabaci	Pseud. intybi	Pseud. syringae		Pseud. lachrym.
	St. VIII	St. 4	St. 5	St. 7R	St. 8	St. 9R	St. 10	St. C 7	St. 1	St. 1	St. Lipst. I	St. 4
1: 50	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	0	++/+	++	++/+
1: 100	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	0	+	++/+	++/+
1: 200	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	0	(+)	+	+
1: 400	++++	++++/+++	++++	++++	+++	++++	++++	+++	0	0	+	(+)
1: 800	++++	+++	+++	+++	++/+	+++/++	+++	++	0	0	(+)	0
1: 1000	+++	++	++	++	+	++/+	++/+	++/+	0	0	0	0
1: 2000	+++/++	++/+	+	++/+	+	+	+	(+)	0	0	0	0
1: 3000	++/+	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0	0
1: 5000	+	0	?	(+)	0	0	0	0	0	0	0	0
1: 8000	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1: 10 000	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[1]) Die Zeichen ++++ bis (+) charakterisieren die Stärke der Agglutination, wobei ++++ = vollständige Agglutination, (+) = sehr schwache und 0 = keine Agglutination bedeuten.

recht nahestehen, die Präzipitations-Ergebnisse (vgl. Tab. 4 u. 5) lassen aber einwandfrei erkennen, daß sie nicht mit diesen beiden letzteren identisch sind.

Tabelle 4.
Präzipitationsversuch mit Kaninchenserum von Stamm 10 der Erbsenbakterien.

Serummenge in ccm	Pseud. pisi St. 10	St. 7R	Pseud. med. var. phas. St. VIII	Pseud. tabaci St. C 7	Pseud. intybi St. 1	Pseud. syringae St. Lipst. I	Pseud. lachrym. St. III_2
0,1	+	+	0	0	0	0	0
0,05	+	+	0	0	0	0	0
0,01	+	+	0	0	0	0	0
0,005	+	+	0	0	0	0	0
0,001	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 5. Präzipitationsversuch mit Kaninchenserum von Stamm VIII der Pseud. medicaginis var. phaseolicola.

Serummenge in ccm	Pseud. med. var. phas. St. VIII	Pseud. pisi St. 10	St. 7R	Pseud. tabaci St. C 7	Pseud. intybi St. 1	Pseud. syringae St. Lipst. I	Pseud. lachrym. St. III_2
0,1	+	0	0	0	0	0	0
0,05	+	0	0	0	0	0	0
0,01	+	0	0	0	0	0	0
0,005	?	0	0	0	0	0	0
0,001	0	0	0	0	0	0	0

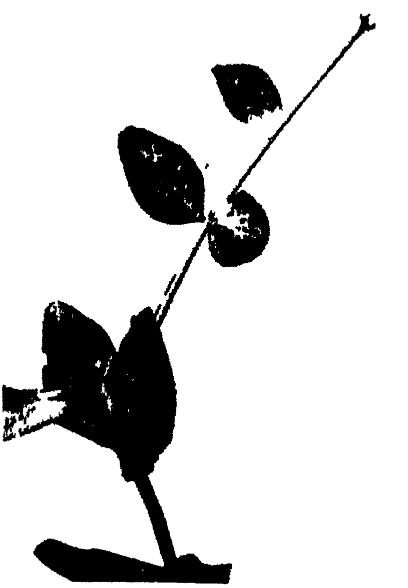


Abb. 5. Bakterieller Stengelbrand an Erbsen. Künstliche Blattinfektion durch Nadelstich am 27. 6. 1935; aufgenommen am 16. 7. 1935. Sorte Nordost, frühe graue Peluschke. Etwa 3/4 natürlicher Größe.

Pathogenitätsprüfungen.

Um auf einfachstem, schnellem und sicherem Wege Aufschluß darüber zu erhalten, ob die aus kranken Erbsenpflanzen isolierten Bakterien auch für Erbsen pathogen sind, wurde so verfahren, daß Erbsenfrüchte (Hülsen) durch Nadelstich oder durch Bepinseln mit 48 Std. alten Bakterien-Reinkulturen infiziert und die Früchte getrennt voneinander auf Blockschälchen in einer feuchten Kammer bei 26—28° aufbewahrt wurden. Zunächst wurde dabei außer der Sorte „Saxa, Pahl Erbse" die Sorte benutzt, an der die Krankheit aufgetreten war. Bereits nach 3—6 Tagen waren an den infizierten Hülsen deutliche Symptome wahrzunehmen, während die Kontrollfrüchte, die nur angestochen bzw. mit Wasser bepinselt waren, keinerlei Veränderungen zeigten.

Dann wurden im gleichen Herbst 1934 erstmalig alle Stämme an Freilandpflanzen „Saxa, Pahl Erbsen" geprüft, wobei junges Bakterienmaterial

auf Stengel, Blätter und Hülsen aufgetragen und durch diese Bakterienmasse hindurch Nadelstiche in die Organe ausgeführt wurden (s. Abb. 5). Auch hier waren nach einer Woche die Infektionsstellen an den Hülsen alle angegangen, der Impferfolg der einzelnen Stämme war aber wechselnd. So hatten z. B. Stamm E 4 und E 5 (s. Abb. 6) sehr deutliche Flecke an den Hülsen, wenig deutliche Symptome an den Blättern und gar keine Symptome an den Stengeln hervorgerufen, während Stamm E 10 nur schwache Symptome an den Hülsen, aber deutliche sowohl an Stengeln wie an den Blättern und E 9_R überhaupt keine erfolgreichen Stengel- und Blattinfektionen erkennen ließ. Es schien dieses ungleiche Ergebnis nicht so sehr durch die verschieden starke Virulenz der einzelnen Stämme als durch die Art der Impfung bedingt.



Abb. 6. Bakterieller Stengelbrand an Erbsen. Künstlich durch Nadelstiche am 2. 7. 1935 infizierte Erbsenfrüchte, aufgenommen am 16. 7. 1935. Sorte Schurigs Frühe. Etwa $^3/_4$ natürlicher Größe.

Da in der Literatur einheitlich auf die verschieden starke Anfälligkeit der Erbsensorten hingewiesen ist und deshalb auch meinerseits die Absicht bestand, eine größere Zahl in Deutschland bekannter Erbsensorten auf Resistenz zu prüfen, lag es nahe, die Brauchbarkeit der Methode, wie sie von mir (26) für die Resistenzprüfungen der Buschbohnen ausgearbeitet worden war, für die Erbsen zu erproben.

Es wurden also im Frühjahr 1935 Erbsensamen mehrerer Sorten in Sägemehl vorgekeimt, in Erbsenbakterien - Suspension getaucht und dann in Erde eingepflanzt in der gleichen Weise, wie das von mir für die Bohnen beschrieben ist, nur wurde die Tauchzeit von 2 auf 3 Std. erhöht. Einige wenige Erbsensorten und die Bakterienstämme E 7_R und E 10 wurden für diese Prüfungen vorerst herangezogen. Das Auslegen der Samen in Sägemehl erfolgte am 18. April, das Tauchen und Pflanzen am 25. April 1935. Je 10 Pflanzen jeder Sorte wurden in Wasser, je 20 in Bakterien-Suspension getaucht. Leider eignete sich die Erbse nicht in gleichem Maße gut als Gewächshauspflanze wie die Bohne, jedenfalls wuchsen die zarten Erbsenpflanzen sehr schnell heran und vergeilten mehr oder weniger stark. Dennoch traten zum Teil sehr deutliche Symptome an Stengeln, Fiederblättern und Stipeln auf.

Die nachstehende Tab. 6 gibt einen Überblick über die Ergebnisse, die bis zum 20. Juni 1935 erhalten wurden.

Tabelle 6.

Erbsensorten	Zahl der infizierten Pflanzen mit Symptomen deutl.	schwach.	keine	Kontrollpflanzen	Bewertung
Mansholts Hala Kapuziner . . .	15	4	1	gesund	3—4[2])
Lucienhofer Wintererbse . . .	11	5	4	,,	3
Vilmorins Felderbse, graue Winter	9	4	6[1])	,,	2—3
Vilmorins Felderbse, graue Sommer	16	0	4[1])	,,	3
Heines Folgererbse	3	3	14	,,	1—2
Nordost frühe grüne Erbse . . .	15	1	4	,,	3—4

[1]) Eine Pflanze fällt aus.
[2]) Es bedeuten die Zahlen 1 = schwach, 2 mäßig, 3 stark und 4 sehr stark anfällig.

Da auch dieses Infektions-Ergebnis nicht voll befriedigte, wurde die Prüfung der insgesamt 37 verschiedenen Sorten an Freilandpflanzen durchgeführt, wobei zum Unterschied von den ersten Freilandprüfungen die Infektion in der Weise erfolgte, daß 48 Std. alte Erbsenbakterien-Kulturen mit einem Preßsaft frischer Erbsenpflanzen abgeschwemmt und diese Suspension zu Wund-Infektionen und Pinselungen verwandt wurde. Auf eine Kartoffel-Agar-Schrägkultur (48 Std. alt) wurden etwa 2 ccm Preßsaft verwendet.



Abb. 7. Bakterieller Stengelbrand an Erbsen. Künstlich durch Bepinseln am 1. 7. 1935 infizierte Erbsenfruchte; aufgenommen am 16. 7. 1935. Sorte P.S.G., große gelbe Kreuzungserbse 2037. Etwa ²/₃ natürlicher Größe.

37 Sorten waren jeweils auf kleinen Parzellen von 1 × 2 m zweireihig ausgesät worden. Die Infektionen wurden etwa 6 Wochen nach dem Säen durchgeführt.

Nach Ausbildung der Früchte wurden auch an einigen Sorten diese noch gesondert infiziert (s. Abb. 7).

Trotz der ungünstigen Witterungsverhältnisse — es war in der Zeit der künstlichen Infektionen tagsüber sehr heiß und ständig trocken, so daß das Behandeln der Pflanzen mit den Suspensionen erst nach Sonnenuntergang erfolgen konnte — gelangen die Stomatal-Infektionen, die nach L u d w i g sehr selten vorkommen sollen, hier ausgezeichnet. Es dürfte das sehr wahrscheinlich seinen Hauptgrund in der Verwendung des Preßsaftes als Abschwemmungsflüssigkeit haben, der infolge seiner geringen

Oberflächenspannung eine sehr starke Benetzungsfähigkeit besitzt (25) und in dem die Bakterien eine sehr gute Schwärmfähigkeit zeigten.

Tabelle 7.

Erbsensorte	Bewertung
Barths allerfr. Maierbse	2—3
Breustedts Schladener gelbe Victoria	2—3
Gernheimer grüne Folger	3
Grünbleibende Schnabel	3
Heines Folgererbse	1
„ Viktoriaerbse	1
Hohenheimer grüne Victoriaerbse.	3
„ rosablühende schwed. Futtererbse	2
Lohmanns Weender grünbl. Folgererbse . . .	3—4
Lucienhofer Wintererbse	3
Mansholts Corona Erwt	2—3
„ gekruiste extra gr. Erwt	4
„ Hala Capuzijner	3—4
„ Kortstroo Schokker Erwt 2517 . .	1—2
„ Plukerwt	4
Mahndorfer fr. gelbe Victoriaerbse	3
Meyers Friedeburger Victoria	1—2
Nordost, frühe graue Peluschke	2—3
„ frühe grüne Erbse	4
„ kleine weiße Erbse	1—2
P.S.G. Drambg. fr. Kreuzungserbse	3—4
„ gelbe Kreuzungserbse	2—3
„ große gelbe Kreuzungserbse	4
„ große grüne Kreuzungserbse.	2
„ kleine weiße Gemengeerbse	3
Rappoldshofer Victoriaerbse St. A	2—3
„ „ St. D	2—3
Rimpaus Bandelstorfer Peluschken	2
Ruhmers Gatterstedter Victoriaerbse	2—3
Schurigs Frühe	3
Strubes fr. Victoriaerbse	1—2
„ Victoriaerbse St. 97 (Neuzucht)	2
Svalofs Buttererbse	2—3
Vilmorins Felderbse, graue Winter	3
„ „ , graue Sommer	2—3
Wernickes Victoria	3
Werthers Jenaer Victoriaerbse	1—2

Das Ergebnis ist in Tab. 7 niedergelegt. Aus ihr ist zu ersehen, daß sehr deutliche Anfälligkeits-Unterschiede aufgetreten sind und daß keine Sorte sich als vollkommen resistent erwiesen hat.

Die Anfälligkeitsgrade sind, wie in Tab. 6 in Zahlen von 1—4 ausgedrückt, wobei 1 = schwache, 2 = mäßige, 3 = starke und 4 = sehr starke Anfälligkeit bedeuten. Bei der praktischen Auswertung dieser Ergebnisse wird aber berücksichtigt werden müssen, daß sie nur auf Grund einjähriger Freilandversuche gewonnen sind[1]), d. h. die Sorten, die starke und sehr starke Anfälligkeit aufwiesen, sind sicher auch als stark bzw. sehr stark anfällig zu bezeichnen, doch besteht bei den Sorten, die sich relativ widerstandsfähig

[1]) Eine Wiederholung der Freilandversuche im Jahre 1936 war leider nicht möglich.

erwiesen haben, die Möglichkeit, unter anderen vielleicht noch ungünstigeren Bedingungen doch eine höhere Anfälligkeit zu zeigen.

Während bei den Gewächshausversuchen die Symptome vor allem an den Stengeln, wenn auch deutlich, so doch nicht stark auftraten, waren sie im Freiland teilweise derart auffallend, daß Pflanzen z. B. infolge der Dunkelfärbung ihrer Stengel über große Strecken hin bereits in einiger Entfernung vom Standort als bakterienkrank zu erkennen waren. Es ist deshalb interessant, beim Vergleich der Gewächshaus- und Freiland-Infektionsergebnisse der gleichen Sorten (Tab. 6 u. 7) dennoch eine angenäherte Übereinstimmung in den Resistenzverschiedenheiten der Sorten feststellen zu können.

Bekämpfung.

Eine direkte Bekämpfung auf dem Felde dürfte fur Pflanzen wie Erbsen kaum jemals in Frage kommen.

Sackett (21), Ludwig (16) und auch andere halten die Auffindung oder Züchtung gegen den bakteriellen Erreger resistenter Erbsensorten im Hinblick auf eine wirksame Bekämpfung als das erstrebenswerteste Ziel. Versuche von Crosby und Chupp (6), resistente Erbsenstämme zu selektieren, sind wenig befriedigend gewesen.

Es wäre auf Grund der vorliegenden Ergebnisse aber zu prüfen, ob die in der Tab. 7 als relativ resistent aufgeführten Sorten auch unter anderen klimatischen und Bodenverhältnissen diese höhere Resistenz behalten. Ihr Anbau wäre — soweit die Sorte als Saatgut zugelassen ist — in allen Gebieten zu empfehlen, in denen die Krankheit in Zukunft stärker auftreten sollte. Sie dürften andererseits für die Züchter von Wert sein, die sich die Neuzüchtung widerstandsfähiger Erbsensorten angelegen sein lassen.

Da die Krankheitserreger durch die Samen verschleppt werden können, worauf schon Jennison (10) hingewiesen hat, und die Bakterien, wie Jones und Linford (15) und Skoric (23) zeigen konnten, sogar an der Samenoberfläche überwintern können, wird von Skoric eine Saatbeizung vorgeschlagen, doch wird hinzugefügt, daß erst sehr eingehende Prüfungen mit den verschiedenen Desinfizientien durchzuführen seien.

Auf jeden Fall ist nur von solchen Feldern Saatgut zu verwenden, die im letzten Jahre keine kranken Erbsen getragen haben.

Während Sackett vorschlägt, im Falle der Gefährdung durch Pseud. pisi den Aussaattermin 10—14 Tage später zu legen als ortsüblich, treten Crosby und Chupp für eine Vorverlegung in das zeitige Frühjahr ein, weil hohe Temperaturen, verbunden mit hoher Feuchtigkeit, den Befall der Jungpflanzen durch Pseud. pisi begünstigten.

Zusammenfassung.

Es wird über eine 1934 erstmalig in Deutschland aufgetretene bakterielle Krankheit an Erbsen berichtet, von der ein genaues Krankheitsbild gegeben wird.

Dieser „bakterielle Stengelbrand" stimmt in seinen äußeren und inneren Krankheitssymptomen weitgehend mit einer seit 1916 durch Sackett aus dem nordamerikanischen Staate Colorado bekannt gewordenen Erbsenbakteriose überein.

Der aus den kranken Pflanzen isolierte Fluoreszent zeigt zwar in mehreren Punkten Abweichungen von dem durch Sackett beschriebenen Erreger,

den dieser Pseud. pisi genannt hat, hat aber andererseits so wesentliche Eigenschaften mit demselben gemein, daß über die Identität beider kein Zweifel sein kann. Ergänzende Untersuchungen, auch serologische, sind durchgeführt.

Bei 37 geprüften Erbsensorten zeigten sich größere Anfälligkeitsunterschiede; als völlig resistent erwies sich keine der Sorten.

Auf die Bekämpfung wird kurz eingegangen.

Literatur.

1. Brown, J. G., and Evans, M. M., Two diseases of peas new to Arizona. (Arizona Agric. Exp. Stat. Techn. Bull. Vol. 44. 1932. p. 289—324.) — 2. Brown, J. G., and Evans, M. M., Diseases of peas in Arizona. (Arizona Agric. Exp. Stat. Bull. Vol. 142. 1933. pp. 78.) — 3. Burger, O. F., Report of Plant Pathologist. (Rept. Florida Exp. Stat. for the fiscal year ending June 30, 1924. 84 R — 113 R; ref. Rev. appl. mycology. Vol. 4. 1925. p. 721.) — 4. Cayley, D. M., Bacterial disease of Pisum sativum. (Journ. Agric. Science. Vol. 8. 1917. p. 461—479; Proc. Roy. Soc. B. Vol. 86. 1912.) — 5. Christoff, A. [Some plant diseases new to Bulgaria.] (Dtsch. Zusfassg.) (Renseignements Agricoles, Sofia. Vol. 11. 1930. p. 18; ref. Rev. appl. mycology. Vol. 11. 1932. p. 475.) — 6. Crosby, C. R., and Chupp, C., The control diseases and insects affecting vegetable crops on Long Island. (N. York State College of Agriculture at Cornell University Bull. Vol. 278. 1934. p. 31—32.) — 7. Elliott, Ch., Manual of bacterial plant pathogens. Baltimore 1930. — 8. Harter, L. L., and Zaumeyer, W. J., Bean and pea diseases in some of the western States in 1934. (Plant Dis. Reporter. Vol. 19. 1935. p. 142—144.) — 9. Harter, L. L., Zaumeyer, W. J., and Wade, B. L., Pea diseases and their control. (U. S. Dept. Agric. Washington Farmers' Bull. Vol. 1735. 1934. pp. 24.) — 10. Jennison, H. M., Observations upon the bacterial blight of field and garden peas in Montana. (Abstr. in Phytopathol. Vol. 11. 1921. p. 104.) — 11. Jones, F. R., and Linford, M. B., Pea disease survey in Wisconsin. (Wisc. Agric. Exp. Stat. Res. Bull. Vol. 64. 1925. p. 25—26.) — 12. Kern, H., Hongrie: Maladies cryptogamiques nouvelles ou rares. (Moniteur international de la protection des plantes. 1931. p. 200—201.) — 13. Koch, F. E., Einfache Anaerobenzüchtung in Petrischalen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 132. 1934. S. 358—365.) — 14. Lacey, Margaret S., Studies in bacteriosis. XXI. An investigation of marsh spots of Peas. (Ann. of Appl. Biol. Vol. 21. 1934. p. 621—640.) — 15. Linford, M. B., Pea diseases in the United States in 1928. (Plant Disease Reporter, Suppl. Vol. 67. 1929. pp. 14.) — 16. Ludwig, C. A., Pseudomonas (Phytomonas) pisi Sackett, the cause of a pod spot of garden peas. (Phytopath. Vol. 16. 1926. p. 75 and 177—183.) — 17. Miller, J. H., Diseases of the Autrian winter pea in Northern Georgia. (Plant Disease Reporter. Vol. 18. 1934. p. 95—96.) — 18. Noble, R. J., New South Wales: plant diseases. (Internat. Bull. of Plant Protect. Vol. 11. 1931. p. 202—205; siehe auch: Biologist. Ann. Rept. Dept. of Agric., New South Wales, for the year ended 30th June, 1929, p. 10—20. 1930; ref. Rev. appl. mycology. Vol. 10. 1931. p. 161.) — 19. Ogilvie, L., Economic mycology. (Ann. Rep. Agric. and Hort. Res. Stat. Long Ashton, Bristol for 1928; 1929. p. 101; zit. nach Ch. Elliott, siehe dort.) — 20. Rapports sommaires sur les travaux accomplis dans les laboratories en 1932. (Ann. des Épiphyties. T. 19. 1933. p. 1—46.) — 21. Sackett, W. G., A bacterial stem blight of field and garden peas. (Colorado Agric. Exp. Stat. Bull. Vol. 218. 1916. pp. 43.) — 22. Sackett, W. G., Report of Bacteriologist. (Fortieth Ann. Rept. Colorado Agric. Exp. Stat. for the year 1927, 20—24, 1927.) — 23. Skoric, V., Bacterial blight of pea: overwintering, dissimination, and pathological histology. (Phytopathology. Vol. 17. 1927. p. 611—627.) — 24. Stapp, C., Die Schwarzbeinigkeit und Knollennaßfäule der Kartoffel. (Arbeit. a. d. Biolog. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. 16. 1928. S. 643—703.) — 25. Stapp, C., Über die experimentelle Erzeugung von Wildfeuer bei Tabak. (Angew. Botanik. Bd. 15. 1933. S. 225—237.) — 26. Stapp, C., Verfahren zur Prüfung von Bohnen (Phaseolus vulgaris) auf Resistenz gegen Pseudomonas medicaginis var. phaseolicola Burkh., den Erreger der Fettflockenkrankheit. (Angew. Botanik. Bd. 15. 1933. S. 241—252.) — 27. U. S. Dep. Agric. Plant Disease Reporter. Vol. 8. 1924. p. 13—14.

Some Observations of the Iodophile Microflora of the Caecum of the Rabbit; with Special Regard to the Disintegration of Cell-wall Substances.

[From the private laboratory of F. Baker, Inglewood, Parkstone, Dorset.]

By **Frank Baker** and **Rollo Martin.**

With 2 plates.

Introduction.

In a former paper (3) an attempt was made provisionally to characterise the microflora and fauna of the caecum of the guinea-pig as a symbiotic nexus. Attention was particularly called to the prevalence of iodophile micro-organisms; whose significance was discussed in regard to the disintegration of vegetable cell-wall substances there taking place.

Investigations have since been extended to the caecal contents of the rabbit and squirrel. A full discussion of the available data is however deferred. In the present paper we confine our attention primarily to the Iodophile Microflora of the caecum of the rabbit. Certain of the comparative data, none the less, bear so directly on the matter in hand that it may be excusable briefly to indicate their more general features in advance of further information. The caeca, for instance, of the rabbit and guinea-pig, respectively, constitute, as primary foci for the disintegration of cell-wall substances, homologous appendages to the alimentary canals of closely affiliated non ruminant herbivora. The normal diet of the two animals, also, is, in captivity, similar to the point of identity. Remarkable distinctions notwithstanding these resemblances, are apparent, on the one hand, between the macroscopic anatomy of the organs, and, on the other hand, between their indigenous microflora and fauna. Thus the appendix verformis, so conspicuous in the caecum of the rabbit, is entirely absent in the guinea-pig. It would, of course, be premature exclusively or directly to relate to this anatomical divergence the respective characteristics of the microflora and fauna in the two animals. Distinctive features are here, none the less, equally in evidence; particularly in regard to the indigenous spirochaetes and protozoa. With these organisms, since in the majority of instances they are aniodophile, we are not in this paper often concerned. Whenever, nevertheless, as is in several instances conspicuously the case, the divergences extend to the iodophile microflora and fauna the comparative data will be discussed.

Technique.

1. Material.

Wet material is essential for the examination of the iodophile micro-organisms and particularly for the proper elucidation of their relation to the distintegrating cell wall substances. When formalised, such material may be preserved indefinitely. Part of the contents of a freshly incised caecum are vigorously shaken with from 5—10 times their bulk of 10% formalin. (Formalin = 40% formaldehyde) and the suspension allowed to settle for from 12—24 hours. The liquid is then decanted from the sediment. The process is then repeated a number of times with successive changes of water. Finally the water is replaced by 10% formalin.

2. Reagents.

The following reagents were employed for the detection of iodophile micro-organisms. Iodine. Chlorzinciodine. Iodine in Chloral Hydrate.

A. Iodine and Chlorzinciodine.

Material is transferred in small bulk to a watch glass and covered with either of the reagents in question. A drop of the mixture is then placed on a slide, covered, and examined under the microscope. Alternatively, a very small portion of sediment is placed directly on the slide in a drop of the reagent. It is then teased out with needles and a cover glass superimposed. The use of simple iodine solution suffers from the disadvantage that it penetrates only with difficulty the thicker vegetable fragments. Also it gives no indication of the composition of the cell-wall substances. Chlorzinciodine, by contrast, penetrates quickly, and by its colour reactions differentiates certain of the substances present. It frequently causes the tissues to swell. Nevertheless, a preliminary examination with a simple iodine solution should always precede the use of other reagents if only as a control.

B. Iodine in Chloral Hydrate.

Even in the case of material which has been carefully washed, the lack of transparence of the vegetable fragments and the presence of colored degradation products is found seriously to interfere with the detection of iodophile micro-organisms. This obstacle is overcome by the use of Chloral Hydrate which simultaneously clears and bleaches the preparation. A chloral syrup is prepared by covering the crystals of the hydrate with rather less than their own bulk of water. To it is added of Grams Iodine. Previous to treatment with this reagent the material is immersed in or irrigated with simple iodine solution. The same preparation may subsequently be irrigated with Chlorzinciodine. Thus all three reagents may be caused successively to traverse the preparation. This is in fact generally the most convenient procedure.

3. Supplementary reagents and methods.

In addition to the above reagents the following were employed for a preliminary micro-chemical differentiation of the cell-wall substances and of their associated microflora and fauna.

C. Ruthenium Red.

Ruthenium Red was first introduced as a reagent for the detection of pectic substances by Mangin (22). Its value in this regard has been emphasised by Carre and Horne (9), who state in an authoritative paper that "it does not stain pure cellulose and possesses more specific affinity for pectic substances than any other stain used in botanical micro-technique". The solution is best prepared fresh. A small quantity of the substance is transferred on the point of a needle to a watch glass containing a few drops of distilled water; sufficient being added to give the liquid a tint about equal to that of commercial red ink. Washed caecal contents are treated by the reagent either in bulk or by irrigation. The presence of acids may interfere with the reaction of Ruthenium Red. In order to obviate this difficulty material is washed with water containing a small amount (e. g. 2 drops per 500 c. c.) of conc.: Ammonium Hydroxide.

D. Phloroglucin.

Phloroglucin was used for the detection of lignified elements. The preparation is irrigated successively with the reagent in question and with conc: Hydrochloric acid.

E. Scharlach R and Sudan III.

These familiar reagents were used for the detection of cutinised tissues and Fats. Material in bulk is allowed to stain in several times its volume of the respective solutions for two hours. It is then washed with and examined in water. It may, where necessary, be counterstained with dilute Delafield's Haematoxylin.

4. Extraction.

In order to further characterise the relation of the iodophile micro-organisms to the disintegration of cell-wall substances the following methods of extraction were employed.

F. Ammonium Oxalate.

A. 0.5 solution extracts in the course of time the entire range of pectic substances (24). Other cell-wall constituents are not attacked. The washed caecal contents are transferred to many times their bulk of the reagent and allowed to soak for days or weeks. The solution is repeatedly changed. Portions of the sediment are then washed in distilled water and tested with Ruthenium Red. For rapid extraction the material is boiled with solvent either once or several times successively.

G. 4% Sodium Hydroxide.

A 4% solution extracts hemicelluloses but leaves cellulose unchanged (24). The material is allowed to soak for several days. Also contents may be boiled in the solution. Subsequently they are washed in many changes of distilled water, followed by 0.5% HCl. Finally they are tested with Chlorzinciodine, etc.

Microscopical Technique.

A. Direct Observations.

In order satisfactorily to observe the changes produced in the cell-wall substances by the associated micro-organisms, full use should be made of available resolving power. To this end „stopping down“ for contrast is undesirable, since it reduces the numerical aperture of the system. The use of a screen of a color approximately complementary to the violet stained organisms is often advantageous.

B. Polarised Light.

1. Unstained.

A substage polariser may, together with an analysing eyepiece or nosepiece, be conveniently employed for the study of the sclerenchymatous elements. Since these exhibit double refraction, they stand out brightly on a dark ground when the nicols are crossed. Areas of disintegration are in consequence revealed as dark patches. In this way, changes disclosed by micro-chemical can be confirmed by optical analysis.

2. Preparations stained with Chlorzinciodine.

Through the reaction of certain natural cell-wall constituents to give a blue color with Chlorzinciodine micro-crystals of iodine are deposited in the intermicellar spaces. The tissues in consequence of the impregnation, become opaque to polarised light (as Ambronn long ago demonstrated) (1, 14), when their micellar substructure lies parallel to the plane of polarisation. Conversely, when their structure is at right angles to that plane, they become transparent. In Chlorzinciodine preparations, therefore, by illumination with polarised light, the orientation of micellar constituents can in certain instances be determined. This method can be applied with great advantage to the study of the disintegration of cell-wall substances by micro-organisms. In addition, it is permissible to observe at this point, the selective action of these organisms upon their substrate affords an additional aid to the elucidation of the fine structural relations themselves. Thus in the position of polariscopic extinction, the slightest trace of a reaction to Chlorzinciodine is intensified; so that significant changes in the vicinity of lacunae or areas of erosion (see below) can be observed. By turning the plane of polarisation through a right angle the same preparation can be rendered almost transparent and the relations of the deeply stained micro-organisms to the change

taking place accurately determined. All that is required for the demonstration of these changes is the inclusion of an analysing eyepiece in the optical system. The substage polariser is removed, its place being taken by an Abbé condenser.

Observations.

1. The Iodophile Micro-organisms.

If, following the above procedure, a portion of the formalised caecal contents be examined in iodine or Chlorzinciodine the vegetable fragments can be seen, under favourable circumstances, to be densely infiltrated with various kinds of iodophile micro-organisms. Likewise, in the surrounding liquid, numerous species stained in varying shades of blue to mauve may be observed. Amidst this rich proliferation of iodophile micro-organisms it is possible, on morphological grounds alone, to distinguish with some assurance the following types.

Giant Streptococcus. This organism which is a very constant inhabitant of the caecum of the rabbit, is easy to recognise, both on account of its exceptional dimensions and of the intensity with which it stains with iodine. It is most frequently encountered in the form of a diplococcus, though short chains of from 4 to 8 individuals can often be observed. The individual units exhibit considerable variations in size, and on quantitative grounds the existence of large and small strains has sometimes been suspected. In the absence, however, of further characteristics it scarcely seems profitable to pursue this distinction. The dimensions of individual units range from 1.9 μ to 3.2 μ. The units are round or slightly oval in shape, though at division they appear semilunar. Multiplication takes place in typical schizomycete fashion. No signs of spore formation have been observed. The cocci stain a deep blue to blue-violet with iodine or chlorzinciodine. The iodine reacting constituent may be present in individual units in very varying amounts. These are encountered sometimes replete with sometimes devoid of iodophile substance. Again, it may be deposited in the plasma in the form either of granules or of irregular patches. Variations of this kind may be observed even in the consecutive individuals of a single chain. In dividing elements the iodine reaction is lacking in the plane of scission, which is in consequence sharply outlined. A peripheral sheath is clearly visible in those units which are poor in or devoid of iodophile substances. It does not stain either with iodine or with chlorzinciodine. The giant streptococcus is observed in the closest association with vegetable fragments, but is also encountered in the surrounding liquid. That it occasions in the caecum a disintegration of cell-wall substances definitive evidence will presently be brought forward to show. From the above description it will be seen that this organism shews a close similarity to the giant coccus encountered in the caecum of the guinea pig and whose morphological characteristics were outlined in a former paper (3). The resemblance also of this form to the Iodococci (Buchanan, 7) of the mouth had previously been noted. Giant cocci of this kind, then, it seems clear, are frequently indigeneous to the alimentary canal and in particular to the caecum of non-ruminant herbivora. Provisionally, those inhabiting the second locality may be distinguished as Iodococcus intestinalis.

Diplobacillus. This organism is a bacillus of average 2.0 μ in length and 0.75 in breadth. It has rounded ends and varies in shape from

an oval coccus to an ellipsoid rod. The diplobacillus is the form that is most frequently encountered. Short chains are infrequent whilst long threads have in no instance been observed. Spore formation has not been witnessed. The iodine reaction is blue to blue mauve and the iodophile substance very evenly distributed within the units. The organism causes an extensive disintegration of cell wall substances, which process will presently be described. In virtue of the morphological features above enumerated, the organism can easily be distinguished from the other iodophile species present in situ upon and causing erosion of the vegetable fragments. In the surrounding liquid, also, similar organisms are encountered, though their identification in this locality becomes less certain.

Vibrios. Strongly curved tapering rods with rounded ends are frequently to be observed upon the plant remains, either isolated from or in association with the other iodophile microorganisms. They give a bluish reaction with iodine which, however, is generally less pronounced than in the species already enumerated. Spore formation appears to be absent and the organisms may in consequence be described as genuine vibriones. They occasion a very definite disintegration of cell wall substances. (See below.) (Length 3.0 μ, Breadth 0.5 μ.)

Spore forming rods and Clostridia. In the caecum of the guinea pig a number of organisms are encountered which resemble closely those associated elsewhere with the anaerobic pectolysis or retting of vegetable tissues. These will be referred to as amylobacter types. Amongst them we may distinguish.

1. Large elongated rods, sometimes tapering at other times spindle or cigar-shaped (length 10.0 μ, breadth 1.0 μ) with sub-terminal or more rarely medial spores. The rods are often strongly curved and have pointed ends. The curved forms may readily be distinguished from the vibrios by their far greater dimensions and by the presence of spore formation. In the typical instance, they react strongly with iodine to give a blue to blue-mauve reaction. The iodophile substance is, however, variable in amount and may sometimes be absent. These organisms do not appear to form chains though they are found together in large masses. Their action appears to be confined to pectolysis, in regard to which, it would seem, they fulfil an important function. They are found, in consequence, around and upon the pectin containing tissues; but exert no appreciable influence on the harder cell-wall constituents, in association with which they are rarely encountered. They are present in large numbers in the surrounding liquid.

2. Giant Clostridium. This organism is readily recognised on account of its exceptionally large dimensions (2.8 $\mu \times 10.0$ μ). It is a thick swollen rod, usually straight, sometimes slightly curved, with rounded or more rarely pointed ends. Spore formation is typically medial occasionally subterminal. In the first case the organism becomes greatly swollen at the centre and then assumes the clostridium form. With iodine it gives an exceedingly dense reaction, varying in color from blue mauve to indigo. The iodophile substance is frequently absent from the terminal portions which then remain clear. The organism is only occasionally present upon the vegetable tissues, though frequently encountered in the surrounding liquid. It does not appear directly to effect a disintegration of the cell-wall constituents; but it is possible and even probable that a pectolytic enzyme is produced.

3. Small Clostridium. A small iodophile clostridium (4.5 μ

length × 1.5 μ breadth) may often be observed upon the cell wall fragments, sometimes in isolation though more often in association with the giant coccus, vibrio or diplobacillus. It causes a definite breakdown of cell wall substances — though it seems probable that it is unable to attack the more resistant constituents.

Small Micrococcus (M. pygmaeus? Henneberg). This important organism is, it would appear, especially active in the disintegration of sclerenchymatous elements, in and upon which it is often present in great numbers. It is an extremely minute coccus (0.3—0.45 μ) very refractive and giving a positive blue mauve reaction with iodine. Chains have not been observed, the organisms being witnessed either singly or in pairs. Similar organisms have been described by Henneberg (17) and had previously been observed in the caecum of the guinea pig. In the latter case, however, a positive iodine reaction was not obtained.

Yeast. The organism so described is conspicuous amidst the microflora of the caecum by reason of its size (length 25.0 μ, breadth 6.0 μ). It is commonly rod shaped with very rounded ends, though it may appear oval or ellipsiodal in contour. A refractive sheath is present. The plasma is sometimes densely granular at other times finely granular or clear. In the former case a substance — perhaps glycogen or glycogenic complex — is present which gives a reddish reaction with iodine. In the latter case no reaction with iodine is obtained. Large vacuoles may be present which are often situated subterminally. There may also be observed a central body which does not stain with iodine. The multiplication of this organism has not been witnessed in the caecum. On examination, however, of stomachic contents numerous individuals in process of active budding may be observed. The stomach, then, rather than the caecum, would seem to be its natural milieu. It appears to be classifiable as a yeast. No evidence of action on cell-wall substances was obtained.

The major phases in the disintegration of plant cell-wall substances taking place in the caecum.

Since the caecal contents are periodically in process of displacement, by arrival of material from the ileum, in a given sample vegetable fragments in both initial and terminal stages of disintegration are always present. By reason, however, of the relative preponderance of the fragments in one or the other condition such a sample can with some assurance often be characterised as early or late. It will be convenient, at this point, broadly to outline the microscopical and microchemical features of these phases.

In the material which has just arrived from the ileum, the cell contents of the plant tissues are frequently visible though in a state of advanced decomposition. The remains, for instance, of chloroplasts may often be distinguished; but starch or fat, as evidenced by staining with iodine or Scharlach R. respectively, persist only in very small amounts. At this period, a number of structural elements show a pronounced reaction with Ruthenium Red. Thus, the regions which surround the guard cells of the stomata become conspicuous, and in many of the tissues the middle lamella can easily be detected through its bright red color. Finally it can be observed that the surfaces of parenchymatous elements, and in particular of the subcuticular walls of the epidermis, stain in varying shades of purple. Where the same tissues also give a blue color with chlorzinciodine the presence of pectocelluloses may with reasonable probability be surmised. At

this phase, therefore, pectic substances still persist and the various structures remain in large measure mutually coherent. By treatment with ammonium oxalate these cementing substances are dissolved, whilst the reaction of the tissues to Ruthenium Red is diminished or disappears. Simultaneously, the tissue elements fall asunder but may be otherwise unchanged. Already, however, the initiation of pectolysis is evidenced by the detachment, partial or entire, of the cuticle of the subjacent epidermal cells. Such detached fragments can clearly be recognised by their staining with Scharlach R. or Sudan III.

As this pectolysis extends, the tissue elements are progressively dissociated. Thus the epidermal cells are isolated one from another, their lines of scission being clearly indicated through reference to the middle lamella. The guard cells also of the stomatal regions fall out, leaving in the epidermis empty spaces; whilst, simultaneously, hairs become detached through solution of their pectinised bases. In this way, it is clear, that, by progressive pectolysis, the subjacent cell-wall components are exposed and that a far larger absolute surface of cell-wall material becomes accessible to attack. It may be stated, then, that the disintegration of these substances in the caecum, the way for which has been prepared by the fine comminution of the food in the mouth, and by the extraction of starches, fats and sugars, in the superior regions of the alimentary canal, is initiated by a phase of active pectolysis or retting.

If now the earliest be compared with the latest phase of caecal digestion the following distinctions become apparent. In the late period morphologically to distinguish one tissue element from another is frequently impossible. At a penultimate phase, none the less, recognisable tissue elements still persist as almost transparent plates or fibres which may appropriately be termed *ghosts* or *spectres*. Thus the remains, for instance, of epidermal cells, hairs, bast fibres and sclerenchymatous elements of several kinds, can often be identified. In such spectres a reaction to Ruthenium Red is entirely lacking. By the use of this reagent, therefore, it is in large measure possible to differentiate fragments in which disintegration is only commencing from others in which it is reaching completion or is far advanced. At the same time it becomes evident that caecal digestion, which commences with pectolysis, can proceed to the entire dissolution of the pectic substances present in the tissue; though in consequence of the displacement of contents from above, not all the vegetable material attains to this phase of disintegration. If now we compare the behaviour of the tissues in the early and late phase of disintegration to Chlorzinciodine and Ruthenium Red, respectively, some remarkable features are disclosed. As the attack proceeds, whilst the reaction to Ruthenium Red diminishes, an increasing number of elements show a positive reaction to Chlorzinciodine. Where-as in the epidermal cells — such a reaction previously existed it is increased, the color deepening from blue or pinkish-blue to indigo or mauve. Similar blue reactions are acquired by the sclerenchymatous elements of the xylem, which were originally colored brown or yellow, and by the thickened epidermal hairs, originally for the most part colorless. Finally, in the penultimate phase of disintegration, the spectres of the most diverse morphological elements, in which the reaction to Ruthenium Red is now entirely lacking, are on treatment with chlorzinciodine stained in various shades of blue. Whilst, therefore, by the *decrease* in the reaction to the former reagent

a progressive destruction of pectic substances is made evident, through the increase in reaction to the latter, phases in the disintegration of the more resistant cell wall substances are successively disclosed. The most conspicuous features of the disintegration having now been outlined, we may turn to consider the finer details of its accomplishment. To this end it is above all necessary to examine, where it can be observed, the relation of the disintegration effected in the cell-wall substances to the disintegrating agents, which is to say, to the associated microflora and fauna of the caecum.

The details of cell-wall disintegration in relation to disintegrating organisms.

A. Process of disintegration.

1. Formation of lacunae. As Henneberg (17) had previously emphasised and as was shown in two former papers (3, 4) the direct action of micro-organisms in the disintegration of cell-wall substances can be demonstrated through the formation of areas of erosion, termed fossae or lacunae, on the cell-wall themselves. These erosions are easy to demonstrate in cell-wall material from the caecum of the rabbit, and by their aid the relation of several iodophile organisms to the process of disintegration may be established. In addition to or together with the formation of lacunae the attack is evidenced by (2) Local changes in reaction of the elements attacked (3) Swelling and Fibrillation.

2. Local Changes in reaction of the elements attacked. The progressive diminution of the reaction to Ruthenium Red and the increase of reaction to Chlorzinciodine, has been described. The reaction to the latter may be shown, in certain instances, directly to be related to the activities of micro-organisms. Thus the immediate contour and periphery of lacunae can often be observed to stain a deep blue with the chlorzinciodine, whereas the remoter areas take on a much lighter tint or may even remain colorless. Similar changes may be observed, independently of the formation of lacunae, at the broken tips of hairs and of sclerenchymatous elements. In these cases the demonstration of the micro-organisms is sometimes difficult; but with care their presence can usually be established. Further local changes in reaction are described below in connection with the disintegration of the particular morphological elements or cell-wall substances.

3. Fibrillation or swelling. Where the elements attacked possess a marked fibrillar structure, as e. g. in the fibres of the xylem or phloem, disintegration brings this far more clearly into prominence. Thus, in the penultimate stage of disintegration, an extensive fibrillation of the ghosts is often observed simultaneously with increase in their reaction to chlorzinciodine. In fragments stained in this way, the micellar orientation of the fibrils can be studied through their dichroic behaviour to polarised light. Fibrillation, however, is accompanied by swelling of the liberated fibrils which are in consequence eventually obliterated.

B. Fate of Individual plant elements.

In certain of the more easily recognisable plant elements it is possible to follow in considerable detail the stages intervening between the initial and the terminal phases of disintegration. Here we may in particular con-

sider the fate of the epidermal cells and hairs, the prosenchymatous elements of the xylem, and the spirally thickened vessels.

1. Epidermal Tissues. By pectolysis, as remarked, the cuticle of the epidermis is dislodged. Especially active in this initial phase appear to be the large iodophile elongated spore forming rods and clostridia of the amylobacter type. In the subcuticular region the relation of these micro-organisms to the process of disintegration can easily be established. Thus, not only is the intact cuticle loosened (Scharlach R.), but the entire surface of the subjacent epidermal layer thereby exposed is frequently found to be covered with a closely packed mass of the organisms in question. Here, however, the formation of definitive lacunae has not been witnessed, probably owing to the general softening of the pectic substratum, and to the rapidity with which the cementing substances are attacked.

In addition to species of the amylobacter type, may often be observed the giant coccus, small vibrio, and the coccobacillus. The last of these, again, is frequently encountered in the middle lamella. It is possible that these organisms here constitute only secondary infections: though it appears very probable that they are able themselves independently to effect a dissolution of the pectic substances. What seems clear is that their activities are by no means confined to these constituents. So, for instance, by dissolution of their middle lamellae, the epidermal cells are dissociated one from another and fall apart. Since these cells react positively both to Chlorzinciodine and to Ruthenium Red, the presence of pectocelluloses may be surmised. Upon their surfaces, proceeding inwards from their margins, a disintegration is taking place. Thus they exhibit, throughout, an extensive lacunation; whilst in the lacunae iodophile organisms are firmly entrenched. Amongst these, by far the commonest species are, the giant coccus, small vibrio, and the diplobacillus; all three of which may be encountered within the boundaries of a single area of erosion. Alternatively, each may be present isolated from the others in individual fossae or lacunae. But, in all cases, the margins of the lacunae themselves outline sharply the contours of the organisms which they enclose and by which they are eroded. In the vicinity of these areas, the aforementioned deepening of the reaction to Chlorzinciodine may frequently be observed; and in polarised light may be diminished or intensified in the manner already described. It is noteworthy, also, that, when a number of such reactive patches are distributed haphazard upon a single cell surface, all of them exhibit, irrespective of shape and size, an identical relation to the angle of maximum intensification. Many things, therefore, happen, as if, by diffusion beyond the boundaries of the lacuna, the enzyme liberated by the organism effects, in advance of disintegration proper, an extraction of intermicellar constituents; and so lays bare, at one point or another, the common micellar substructure of the cell. By a deepening, in the meantime, of the fossae subjacent to the individual organisms the cell wall becomes in places perforated. Since a larger number of organisms are usually assembled at the margins than at the centre of a lacuna, perforation here proceeds more rapidly, and fragments of a characteristic and irregular contour may in consequence be excised. It is these fragments that persist for a while as ghosts or spectres, and which are themselves in due course subject to disintegration.

2. Epidermal Hairs. Upon and issuing from the epidermis, hairs of several and characteristic forms and in various stages of develop-

ment are commonly to be observed. When intact, these hairs shew a firm cuticle, subjacent to which is a thick cell wall enclosing a central cavity. The cuticle may be brought into prominence with Scharlach R. The cell-wall itself stains a light yellow with Chlorzinciodine, which becomes greenish towards the lumen of the hair. After boiling with 4% NaOH, they appear swollen: the innermost layers of the cell-wall then staining a deep violet with Chlorzinciodine. The color diminishes towards the periphery. At the base of the hairs, where they join the epidermis, a strong reaction is exhibited to Ruthenium Red; though the true walls remain colorless throughout the length of the hair. From these data it might appear as though we are concerned with the partial cuticularisation of a hair: and with the encrustation of the subjacent micellar structure, not with the pectic substances, as in the case of the epidermal cells, but, more probably, with hemicelluloses or bodies of a related composition. The hairs give no reaction with Phloroglucin; so that the presence of lignin may definitely be excluded.

In these hairs, meanwhile, the initial phases of disintegration may with exceptional facility be observed; and the mode of access, in consequence, of the responsible micro-organisms determined with precision. Thus, by comminution in the mouth and by mutual attrition, the hairs are frequently broken and the cuticle abraded. These fractures and lesions of the cuticuler afford so many initial foci of disintegration. So likewise, by pectolysis, the hairs are dislodged from the epidermis and their non-cuticularised and thin walled bases directly exposed to attack. From various loci disintegration may proceed and thence progressively embrace the entire structure of the hair. Thus, at each focus, there is observed, in the first place, a localised blue reaction to chlorzinciodine, which is intensified in polarised light in a direction strictly parallel to the length of the hair. By turning the prism through a right angle, the included micro-organisms can be brought into prominence.

At this phase and in such localities the diplobacillus and the small coccus are the types most frequently observed. In some cases the giant coccus is demonstrable. In all instances the formation of fossae and lacunae may be established. The subsequent course of disintegration varies slightly according to the number and situation of the points of invasion. Where, for instance, it commences at the base it may extend upwards beneath the cuticle, which becomes detached; alternatively, it may proceed up the interior of the hair, extending from the wall of the central cavity towards the periphery. Where, on the contrary, a breach in continuity of the cuticle affords the point of access the attack necessarily commences at the outer surface and works inwards towards the interior. Finally, in the case of transverse fractures, all the lamellae of the wall are exposed and succumb simultaneously to infection. In all instances the progress of disintegration at and from the foci is clearly evidenced by the spreading of the blue reaction with Chlorzinciodine. Moreover, it seems probable, that the areas circumjacent to the initial points of attack become, through diffusion into them of the liberated enzymes, more susceptible to invasion; so that the disintegration, once it has commenced, proceeds with increasing rapidity, owing to the formation of secondary foci of infection. It is, for the rest, at least certain, that, whether by multiplication of the species originally present, by re-infection, or for both reasons, the entire hair becomes in time infiltrated with iodophile micro-organisms; and itself acquires,

throughout, a blue reaction to chlorzinciodine. At this stage, the presence in great numbers, though in varying numerical ratio, of the giant coccus, the diplobacillus, and the small coccus may be observed. In consequence of this invasion, the hair is, through the extensive formation of fossae and lacunae, progressively eroded. Since the infection is very commonly initiated at the base and tip, respectively, it is at these points that disintegration is most advanced. The middle and remaining portions of the hair are in such cases greatly swollen and the lumen is either obliterated or obscured. Fibrillation, also, may be conspicuously in evidence. In this way, the entire hair is, in due course, completely demolished.

3. Sclerenchymatous elements of the Xylem.

a. Prosenchyma. Previous to the commencement of disintegration. the prosenchymatous elements of the xylem stain a yellow-brown with Chlorzinciodine. With Phloroglucin they give a scarlet reaction. By boiling with 4% sodium hydroxide the yellow coloration with Chlorzinciodine is diminished or destroyed, probably through the extraction of hemicelluloses. At the same time, striae with a blue to violet reaction are often brought into prominence, showing the presence of a substratum of cellulose. In many respects, the disintegration of these elements follows a course similar to that observed in hairs. Thus, the initial points of attack are clearly indicated by the appearance of a bluish-mauve reaction to Chlorzinciodine, the unaffected portion remaining yellowish. Here, also, the original focus of infection is most commonly a fracture. In polarised light an intensification of the stained areas can be effected. With crossed nicols it can be shewn that double refraction decreases or is absent in the same situations. Finally, with the progress of disintegration. not only does the entire structure acquire a blue reaction to Chlorzinciodine, but, simultaneously, the reaction to Phloroglucin descreases; the original scarlet color being replaced by diminishing shades of pink. The organisms responsible for these changes appear to be the diplobacilli and, very particularly, the smallest cocci. In the thickened walls, the formation of lacunae can clearly be observed. The giant coccus is very rarely encountered, at least in the earlier stages of disintegration. It is present in the later stages, though perhaps only as a secondary infection.

b. Spiral Vessels. The disintegration of the spiral vessels is first evidenced by the unrolling of the spiral. This is occasioned, it would appear, by the snapping from point to point of the superficial lamellae, in consequence, of the tension induced by swelling. Previous to disintegration, the vessels have sharp outlines, are double refracting, give a scarlet colour with Phloroglucin and stain a deep yellow with Chlorzinciodine. Where the attack has commenced, their outline becomes irregular and their surfaces eroded. By careful observation, the presence of the smallest cocci can in many cases be demonstrated. More rarely, the diplobacilli have been observed. The giant coccus seems to play no role in these processes; nor in any single instance has it been observed upon or associated with a spiral vessel. As disintegration proceeds, a dissociation of the unrolled spiral into fibrils becomes apparent. These fibrils, when isolated, stain a blue color with Chlorzinciodine; whilst the bulk of the tissue now assumes a greenish tint. Under similar circumstances, the reaction to Phloro-

glucin is diminished. Thus, side by side, in the same preparation, may be witnessed intact vessels, staining a deep magenta, and others, partly unrolled, in which only a pinkish tinge can be observed. Again, the Phloroglucin reaction is stronger in the vessels which have not yet been dissociated from the surrounding vascular tissue by pectolysis than in those which are lying free. The ultimate fate of the fibrils is not easy to determine. Vessels in which fibrillation is advanced are sometimes surrounded by a gummy mass into which the fibrils appear to be in process of conversion. This substance gives a blue reaction to Chlorzinciodine and is insoluble both in 4% sodium hydroxide and ammonium oxalate.

Nature of the Substances Attacked.

It will be evident, that the microchemical tests employed in the present investigation can afford no more than a preliminary insight upon the nature of the changes induced in the vegetable fragments present in the caecum. Taking simultaneously into account, however, the structural features of the elements attacked and their reaction to these tests, the observations above recorded seem to establish with some certainty the disintegration in the caecum of: (1) The pectic substances of the middle lamella; (2) Pectocelluloses; (3) The hemicelluloses associated with sclerenchymatous elements; (4) The true cellulose substratum of the plant tissues. Whether, in the case of the sclerenchymatous elements of the xylem, the disintegration so clearly evidenced embraces, in addition to the hemicelluloses known to be present, the lignin components, properly so called, must still remain in doubt. The decrease of the phloroglucinol reaction, even if it affords presumptive evidence of disintegration, cannot be regarded as conclusive; since the reaction is entirely absent in the lignin complexes isolated by chemical extraction (16, 24).

Comparative Observations.

In a former paper (3) the iodophile microflora and fauna indigenous to the caecum of the guinea pig was described in some detail. The technique then employed did not, however, permit of a full study of the relation of these organisms to the disintegration of cell-wall substances. Comparisons on this point must, therefore, for the time being, be withheld. In the present paper, we have already noted the similarity between the remarkable species of giant iodophile streptococci common to both localities. Equally noteworthy appears to be the absence, in the rabbit, so far as present observations extend, of the iodophile (amylodextrin reaction) oscillaria (Oscillospira guillermondi) so conspicuous in the guinea pig (3), and of the organism described by Simons (28) as Selenomonas palitans. The latter, it may be recalled, gives a glycogen reaction with iodine.

Discussion.

In the disintegration of cell wall substances in the caecum, we are concerned with the action of a mixed bacterial flora upon a complex substrate. It is worthy of emphasis, that, under natural as opposed to laboratory conditions, this state of affairs constitutes a rule rather than an exception (24). Pure cellulose, for example, is of rare occurrence in free nature, the cotton fibre occupying, in this regard, a somewhat isolated position. Notwithstanding, again, that, as X-ray analysis demonstrates (14, 25, 28), micellar chains of cellulose afford the fine structural matrix or groundwork of the

cell wall, the intermicellar spaces are, in the majority of plant structures, infiltrated with condensation products; to which they stand in the closest physical proximity. It is clear, moreover, that where this fine structural system is in process of dissolution, the physical contiguity of its phases at once renders possible the chemical interaction of micellar and intermicellar constituents. Pure cellulose, then, even where its presence can be established as a micellar substructure, is here embraced in a system to which it may not continuously remain, as it does in vitro, chemically and physically indifferent. Finally, that the susceptibility of pure cellulose to attack by micro-organisms is in fact modified by the character of the substrate, had already been shewn by Gray and Chalmers in the case of Microspira agar-liquefaciens (15). Thus, in addition to the retarding action of glucose, they were able to demonstrate the accelerating influence of xylose and lignin; substances which, as they emphasise, are normal cell wall constituents of the majority of vegetable tissues. These considerations, it will be evident, are in many ways relevant to the interpretation of changes of the kind produced in the vegetable substrate of the caecum by its associated microflora. In such a case, it is likewise apparent that the direct observation of the changes occurring in situ constitutes a necessary preliminary to the interpretation of pure cultural results. In view of the paucity of comparative data at present available on this head the attempt would be premature fully to assess the significance of the observations recorded in the present paper. Certain appearances might none the less suggest — though merely as a tentative interpretation of results — that we are here concerned with the action of an indigenous association of micro-organisms adjusted as a totality to the progressive dismemberment of a fine structural complex of cell wall substances. This association of micro-organisms would thus bring to a close that effective demolition of the plant-skeleton the mechanical phase of which is initiated in the mouth by the grinding action of the molars; whose adjustment to the accomplishment of which end the dental formula of herbivorous animals manifestly bears witness. The dissolution, meanwhile, of the microscopic and fine structural elements we might perhaps envisage as proceeding from a mere extraction of intermicellar substances to a weakening and ultimately to resolution of the micellar substructure itself. To the more detailed investigation of these changes, induced in a micellar complex of cell wall substances by the associated micro-organisms of the caecum, it is hoped that the conjoint application of microchemical and polariscopic analysis may prove appropriate. Whether to the same end the methods of X-ray analysis, so fruitful in other fields, can profitably be extended must remain, for the time being, a matter for conjecture.

The significance of the iodophile Microflora.

The relation between the presence of iodine reacting substances and the metabolic requirements of iodophile micro-organisms has been emphasised, amongst others, by Henneberg (17), Zopf (32), and Boas (6). In a former paper (3), these relations were considered in some detail with regard to the microflora and fauna of the caecum of the guinea pig. Certain of the considerations there advanced can legitimately be extended to the caecum of the rabbit. In particular, the sucrophile characteristics of such microorganisms may be remarked: since it would appear directly to acquire signi-

ficance in connexion with the disintegration of the cell wall substances that is taking place. Thus, the formation of sugars as an intermediate stage in the anaerobic decomposition of cellulose by bacteria had, long ago, been established by Pringsheim (26); whilst in more recent times, the production of reducing substancs in pure cultures of a variety of cellulose dissolving but aerobic species has been demonstrated by Kalnins (20). By reason, therefore, of their sucrophile characteristics, it is possible provisionally to relate to the production of sugar the appearance of iodine reacting substances in those micro-organisms which, as in the caecum of the rabbit, directly occasion a disintegration of cell wall constituents. In a not dissimilar context, we may likewise recall the presence of a glycogen reaction as demonstrated by Cleveland (11), in the cellulose dissolving protozoa indigenous to the intestinal tract of termites. The extensive production, then, of iodine reacting substances consequent upon the vigorous proliferation in the caecum of iodophile micro-organisms might afford, on this hypothesis, a tentative index to certain features of the carbohydrate metabolism there obtaining. So, it is by the production of sugars, we should then suppose, effected by the indigenous microflora and fauna, through the disintegration of cell wall substances, that these last obtain for the herbivora their nutritive value. To this value, it may be recalled, physiological evidence independently bears witness (5). It is conspicuous, however, that, outside the alimentary canal, the decomposition of cellulose may normally proceed rapidly beyond the point where a maximum accumulation of sugars can take place. Thus it culminates, in the case of anaerobic decompositions, in the production of fatty acids, hydrogen, methane and carbon dioxide; so that it was only by arresting fermentation at its height, through the addition of toluene, that an isolation of the sugars liberated was first effected by Pringsheim (26). Again, in the instance of Spirochaeta cytophaga, Hutchinson and Clayton (18) record the formation, as end products, of volatile fatty acids. Finally, Kalnins (20) has shewn, in the case of the aerobic species isolated by him, that conditions of partial anaerobiosis are especially favorable to the accumulation of reducing substances.

In so far, then, as, through digestion in the caecum, cellwall substances acquire nutritive value, it would appear that their disintegration, must in some way be subject to organic regulation. On this hypothesis, the formation, in the micro-organisms through which the disintegration is effected, of iodine reacting substances — which are perhaps related to starch — would denote the maintenance of a physiological normal whereby the further resolution of soluble carbohydrates is held in check. Whether, in addition, their deposition should be regarded as a phase of synthesis through the intercalation of which the degradation of carbohydrates taking place is directly suspended is, clearly, a further point for conjecture. On this assumption, the iodophile micro-organisms would be regarded not merely as agents of disintegration but as carriers or acceptors, through whose agency the soluble carbohydrates liberated are temporarily removed from circulation; the solution of iodine reacting substances — perhaps induced by autolysis of the bacteria themselves — taking place only at the conclusion or with the arrest of active fermentation. Conclusive evidence on this mat-

ter is at present not forthcoming; though the iodine reactions in question are conspicuously variable in intensity, and empty cells, which are possibly dead or moribund, may frequently be observed. The alternative or remaining assumption would be that the deposition of these substances does not effectively participate in the translocation of carbohydrates: but merely bespeaks the existence of a metabolic equilibrium established in some other way, and to whose maintenance it does not directly contribute. In advance of investigation, the further discussion of these alternatives becomes improfitable.

But, on either assumption, the organic regulation, to which the proliferation of an iodophile microflora supposedly bears witness, would be conceived as a change induced or fostered in the metabolism of the indigenous micro-organisms through symbiotic association with their host; which is to say, with the tissues and secretions of the caecum. Highly significant, in this connection, appears the case of Oscillospira Guillermondi encountered in the caecum of the guinea pig; where the glycogen normally present in the Oscillariae is entirely replaced by amylodextrin, or at least by a substance giving with iodine a powerful-blue mauve reaction.

Meanwhile, that carbohydrate metabolism, of the kind in question, may in fact be a consequence of symbiotic association the instances of lichen (23) and gall formation (21) make especially clear. In the latter case, moreover, we distinctly perceive, in the formation of the gall, the local subordination of the metabolism of the plant to an organic regulation imposed upon it by its symbiont; which is to say, by the insect larva which it encloses. The larva, in brief, here behaves as an organiser in the sense of Speeman (29) to the tissues of its host. But, that, as Moreau terms them (23) similar biomorphoses attend the association of bacteria and fungi, the instance of mycorrhiza (27) and of the nodule formation in leguminous plants conspicuously illustrates. So, also, Cholodny (10) has remarked the increased production of starch, culminating in the formation of clearly distinguished vegetative cells of akinetes. induced in the filaments of conferva by association with iron bacteria of the genus Sideromonas. Further considerations on this and of other subjects cognate to the problem of symbiosis were discussed in a former paper (3). It is just such an organic regulation, meanwhile, of the metabolism of the indigenous microflora and fauna of the caecum that is, we are supposing, imposed upon them by the digestive organ with which they are associated and in which they are enclosed. In advancing this hypothesis, in which so many conjectural assumptions are embraced, we have had immediately in view, it remains to add, no more than the intention to indicate certain lines of investigation to which, it would appear, the conjectures in question are in every case accessible.

Summary and Conclusions.

1. A number of iodophile micro-organisms indigenous to the caecum of the rabbit are described; which include, Giant Streptococcus, Diplobacillus, Vibrios, Spore forming Rods and Clostridia, Small Micrococcus, Yeast.

2. The changes induced by the associated microflora in vegetable fragments were investigated microscopically. Disintegration of pectic substances, hemicelluloses, cellulose, and with certain qualifications, lignin, was est-

ablished in various plant structures, severally and conjointly; (a) By reference to changes in microchemical reaction; (b) By polariscopic analysis.

3. Through the formation of fossae and lacunae, the role of the iodophile micro-organisms in effecting disintegration was determined.

4. Comparisons were made between the iodophile microflora of the caecum of the rabbit and that of the guinea pig.

5. In relation to the foregoing observations, the conditions which attend the disintegration by a mixed microflora of a mixed substrate of cell wall substances was briefly discussed. The prevalence of these conditions in free nature was remarked and the necessity for direct microscopical observation emphasised.

6. The significance of the iodophile microflora was discussed with particular reference to the carbohydrate metabolism of the caecum and in relation to the nutrition of the host organism.

7. The association of an iodophile microflora with the disintegration of cell wall substances was considered in relation to the data and problems of symbiosis. An attempt was made in this way provisionally to conceive the organic regulation of structure and function in a genetically heterogeneous association.

References to Literature.

1. Ambronn, Hermann, Ber. sachs. Ges. Wiss. Bd. 48. 1896. S. 613. — 2. Baker, J., Science Progress. Nos. 98 & 99, Oct. 1930, Jan. 1931. — 3. Baker, F., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. — 4. Baker, F., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 84. 1931. — 5. Bayliss, „Principles of General Physiology". 1924. — 6. Boas, F., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 51. 1920. — 7. Buchanan, R. E., Systematic Bacteriology. 1925. — 8. Buchner, P., Holznahrung und Symbiose. Berlin 1928. — 9. Carre and Horne, Ann. Bot. Vol. 61. 1927. No. 162. — 10. Cholodny, N., Die Eisenbakterien. (Pflanzenforschung. Heft 4.) — 11. Cleveland, L. A., Biol. Bull. Vol. 46. 1924. Vol. 48. 1925. — 12. Czapek, Biochemie der Pflanzen. — 13. Fellinger, B., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 91. 1924. — 14. Frey-Wyszling, Die Stoffausscheidung der hoheren Pflanzen. Berlin 1935. — 15. Gray-Chalmers, Ann. App. Biol. Vol. 11. Nos. 3 & 4. 1924. — 16. Haas and Hill, Chemistry of Plant Products. 1928. — 17. Henneberg, W., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 53. 1922. — 18. Hutchinson and Clayton, Journ. Agr. Science. Vol. 9. 1919. Part II. — 19. Kalnins, A., Acta. Univ. Lat. Ser. I. Vol. 11. 1930. — 20. Kuster, „Die Gallen der Pflanzen". — 21. Mangin, L., Compt. rend. Vol. 109. 1889. p. 579. — 22. Moreau, F., Les Lichenes. Paris 1928. — 23. Onslow, M. W., „Principles of Plant Biochemistry". 1931. — 24. Preston, R. D., Phil. Trans. Roy. Soc. B. No. 511. Vol. 224. — 25. Pringsheim, Ztschr. Physiol. Chem. Bd. 78. S. 266—291. Die Polysaccharide. 2. Aufl. 1923. — 26. Rayner, „Mycorrhiza". 1927. — 27. Rinne, F., „Crystals and the Fine Structure of Matter". 1924. — 28. Simons, H., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 87. 1921. — 29. Speeman, H., „Die Naturwissenschaften". Bd. 7. 1919. — 30. Thaysen and Bunker, „The Microbiology of Cellulose". 1927. — 31. Zopf, W., Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 18. 1900.

Key to Illustrations.

Plate I.

1. Epidermal tissue. Chlorzinciodine. Large Streptococci in fossae.

2. Epidermal tissue. Chlorzinciodine. Showing extensive disintegration of cell wall substances. Giant streptococci and diplobacilli. Note the increase in reaction to iodine of the affected parts; thus especially in the immediate vicinity of the lacunae.

3. Penultimate stage in the disintegration of an elongated hair. Chlorzinciodine. Giant streptococci. Diplobacilli. Formation of fossae and lacunae.

4. Early stage in the disintegration of a short recurved hair. Chlorzinciodine. The attack is proceeding subjacent to the cuticle, from the base of the hair upwards. On longer immersion in Chlorzinciodine, the areas immediately surrounding the iodophile micro-organisms assumed a bluish tint.

5. Early stage of disintegration in a small hair. Chlorzinciodine. Polarised light. Single nicol. The attack is from a point beneath the tip; where the hair, in consequence, has become constricted. The affected area stains blue; the colour being intensified in a direction parallel to the plane of polarisation.

6. Later stage in the disintegration of a hair. Chlorzinciodone. Polarised light. Single nicol. The affected area has become swollen, and a partial resolution into laminae and fibrils has taken place. The progress and direction of attack is indicated by the blue colour. The nicol is in the position of maximum intensification.

7. Fragments of cell-wall substance, probably epidermal, showing Diplobacilli in individual fossae. Also Lacunae. Chloral Iodine.

8. Giant Streptococcus of the Caecum. Chlorzinciodine. Variations in size and form.

9. Surface of cell-wall. Epidermal tissue. Lacuna containing Giant Streptococcus in association with Vibriones. Note that the contours of the lacuna conform to the shape of the included organisms.

10. Ditto. The surrounding tissues giving faint bluish reaction to Chlorzinciodine.

11. Fragment of tissue that has become excised from the cell-wall by the action of iodophile micro-organisms. Diplobacilli and Small micrococcus. Chloral Iodine.

12. (a) Tissue in late stage of disintegration; probably hair. Polarised light. Single Nicol, in position of maximum intensification. The swollen and fibrillated mass acquired a strong reaction to Chlorzinciodine. The fossa surrounding the Giant Streptococcus is sharply outlined. In the immediate neighbourhood of the organism the cell-wall substance is not merely altered but has been entirely destroyed.

(b) Similar fragment. Chlorzinciodine. Polarised light. Nicol in position of minimum intensification. Illuminated in this way, the altered tissue becomes almost transparent; whilst the iodophile organisms with which it is penetrated are clearly revealed.

13. Single fossa containing Diplobacillus. Chlorzinciodine. Polarised light. Nicol in position of maximum intensification. Note that the reaction is strongest at the periphery of the fossa.

14. Small clostridium type. Chlorzinciodine. Encountered sporadically, sometimes in considerable numbers, in cell-wall surfaces. Its action appears to extend to pectocelluloses.

15. Large iodophile spore forming rods of Amylobacter type found in subcuticular layers; middle lamella, etc. Probably responsible for pectolysis. Does not appear to attack the more resistant cell-wall components.

Plate II.

1. Giant Clostridium type. Chlorzinciodine. This organism does not appear to occasion disintegration of the more resistant cell-wall substances; but is probably pectolytic.

2. Group of Giant Streptococcus. Single individual. Short chain. Also individual showing variation in iodophile substance.

3. Yeast. (a) (b) (c) from stomach. Budding in (a) and (b): (c) showing iodophile substance (Glycogen). (d) and (e) from caecum.

4. Giant Streptococcus, large variety, in association with Vibriones and Diplobacilli. Epidermal tissue. Chlorzinciodine.

5. Giant Streptococcus, small variety. Association with Vibrios and Diplobacilli. Chlorzinciodine. Formation of lacunae.

6. Large Sclerenchymatous element. Chlorzinciodine. Fossae enclosing iodophile micro-organisms. The whole has acquired a bluish reaction to Chlorzinciodine, which is more intense in the affected areas.

7. (a) Sclerenchymatous element. Chlorzinciodine. Polarised light. Nicol in position of minimum intensification. Lacuna containing iodophile micro-organisms. 2× observed dimensions.

(b) Ditto. Nicol in position of maximum intensification. The affected areas have acquired a powerful reaction to Chlorzinciodine.

8. Sclerenchymatous element. Chlorzinciodine. Penetration of the affected tissues by small iodophile micrococci. The disintegrating cell-wall substances now give a blue reaction with chlorzinciodine.

Baker u. Martin. Observations of the iodophile Microflora. Taf I.



VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA

LITH ANST V E GILTSCH, JENA

Lenses. Plate I.

Nos. 4, 6, 8. Leitz $^1/_{12}''$ N. A. 1.30. Oc. 4.
No. 5. Swift $^1/_6''$. N. A. 0.83. Oc. 4.
Remaining Nos. Swift $^1/_{12}''$ N. A. 1.30. Oc. 4.

Plate II.

No. 3. Koritska $^1/_{15}''$, semi-apo. N. A. 1.30. Oc. 4.
No. 4. Leitz $^1/_{12}''$ as above.
Remaining Nos. Swift $^1/_{12}''$ as above.

Acknowledgment.

We wish particularly to acknowledge our indebtedness to Prof. F. G. Gregory of the Imperial College of Science and Technology for the interest he has taken in the development of these investigations. To him, moreover, a number of suggestions in regard to the interpretation of results are directly due. To Dr. Horne of the Imperial College we are also indebted for information regarding the use of Ruthenium Red as a microchemical reagent. Mrs. Frank Baker was kind enough to lend us her assistance in the preparation of the plates.

Untersuchungen über das Vorkommen von anaeroben Sporenbildnern in Milch unter Berücksichtigung ihrer sonstigen hygienischen Beschaffenheit[1]).

[Aus dem Institut für landwirtschaftliche Bakteriologie und Bodenkunde der Universität Leipzig.]

Von **Werner Dührsen.**

Mit 7 Abbildungen im Text und 1 Tafel.

A. Einleitung.

Seit alters her spielt die Milch als Volksnahrungsmittel eine bedeutende Rolle. Ihr hoher Reichtum an Nährstoffen und ihre Leichtverdaulichkeit bedingen es jedoch, daß sie nicht nur eine ausgezeichnete Nahrung für Mensch und Tier darstellt, sondern ein günstiger Nährboden für Mikroorganismen der verschiedensten Art ist.

Vornehmlich bei der Gewinnung im Kuhstall und ferner auf dem Transport ist sie der Möglichkeit von Infektionen ausgesetzt, die sich bei der allgemeinen Verbreitung der Bakterien in der Natur trotz weitgehender Vorsichtsmaßregeln kaum vermeiden lassen.

Infolge der großen Bedeutung, die die Kleinlebewesen für die Milchwirtschaft haben, erstens als Ursache unerwünschter Veränderungen, zweitens als notwendige Erreger der für die Herstellung gewisser Molkereiprodukte unentbehrlichen Gärungen, sind sie seit langem Gegenstand eingehender Forschungen, und die Literatur hierüber hat im Laufe der Zeit beträchtlichen Umfang angenommen.

Dabei ist jedoch der Teil, der sich mit dem Auftreten von anaeroben Sporenbildnern in Milch beschäftigt, nur verhältnismäßig klein, obgleich gerade hierzu eine Reihe gefährlicher pathogener Arten gehören. Dies hat in erster Linie seine Ursache in der Schwierigkeit ihrer Isolierung, vor allem

[1]) Erschienen als Dissertation der Philosophischen Fakultät der Universität Leipzig.

in dem Fehlen eines einheitlichen, leistungsfähigen Züchtungsverfahrens. So erklären sich auch die z. T. recht bedeutenden Abweichungen der nachstehend zusammengestellten bisherigen Untersuchungsergebnisse.

B. Literatur.

Nach Burri[1]), Bredemann[2]), Henneberg[3]), Kürsteiner[4]) und Ruschmann und Harder[5]) kommen als Hauptinfektionsquellen außer Einstreu und Kuhkot vornehmlich die Futterstoffe in Betracht. So zählte Gratz[6]) in 1 g eingesauerter Rubenblatter bis zu 100 Millionen anaerobe Bazillen, während Allen und Harrison[7]) solche in großer Menge in Gras und Grassilage feststellten. Küster[8]) fand 35% der Erdnußkuchen- und 37% der Futtermehlproben reichlich mit Anaerobiern behaftet.

Folgende Zusammenstellung gibt in chronologischer Reihenfolge einen kurzen Überblick über die Resultate der an Marktmilch durchgeführten Untersuchungen auf anaerobe Sporenbildner.

1897	Marpmann[9])	92	Proben,	davon	13%	mit anaeroben Organismen behaftet.
1900	Weber[10])	150	„	„	20%	
1910	Barthel[11])	83	„	„	80%	
1914	Thöni[12])	237	„	„	24%	
1926	Bliss[13])	43	„	„	47%	
1930	Hussong u. Hammer[14])	50	„	„	100%	
1933	Meyn[15])	50	„	„	38%	
1933	Jochims[16])	41	„	„	92%	

Erwähnenswert ist hierbei, daß sowohl Marpmann als auch Barthel und Jochims die Beobachtung machten, daß die Sommermilch reichlicher mit Anaerobiern infiziert war als die Wintermilch.

Weinzirl und Veldee[17]) prüften Markenmilch auf das Vorhandensein von Anaerobiersporen. Sie kamen zu folgenden Ergebnissen:

bei	5 ccm	Milch (roh):	von	90	Proben	25 positiv	(28%)
„	10 „	„ „	„	112	„	42 „	(37,5%)
„	15 „	„ „	„	34	„	17 „	(50%)

bei	5 ccm	Milch (past.):	von	110	Proben	20 positiv	(18%)
„	10 „	„ „	„	110	„	63 „	(57%).

Für die relativ geringen Mengen, in denen demnach anaerobe Sporenbildner in Milch aufzutreten pflegen, sind letztere Befunde recht aufschlußreich. Während bei Verwendung einer nur kleinen Menge Milch (5 ccm) etwa drei Viertel der Proben als

---

1) Burri, Chemiker-Zeit. Jahrg. 43. 1919. S. 636
2) Bredemann, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. S. 385 ff.
3) Henneberg, Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. 74. Erg.-Bd. 1. 1931. S. 33.
4) Kürsteiner, Schweizer Milch-Zeit. Nr. 10. 1932. S. 35.
5) Ruschmann und Harder, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 83. S. 325.
6) Gratz, Süddeutsche Molkerei-Zeit. Jahrg. 52. 1931. S. 1270.
7) Allen and Harrison, Report of proceedings 10th July 1934. Soc. of Agr. Bacteriologists.
8) Küster, Milchw. Zentralbl. Bd. 62. 1933. S. 58 ff.
9) Marpmann, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 21. 1897. S. 101.
10) Weber, Arb. d. kais. Ges.-Amtes. Bd. 17. 1900. S. 113.
11) Barthel, l. c. 1910. S. 14.
12) Thöni, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. S. 11.
13) Bliss, Amer. Journ. of Hyg. Vol. 6. 1926. p. 627.
14) Hussong and Hammer, Journ. of Bact. Vol. 19. 1930. p. 89.
15) Meyn, Milchw. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 426 ff.
16) Jochims, „Anaerobe Sporenbildner in Milch und Molkereiprodukten". Inaug.-Diss. Hannover 1933.
17) Weinzirl and Veldee, Amer. Journ. of publ. Health. Vol. 5. 1915. p. 862.

anaerobenfrei bezeichnet werden konnte, waren es bei 15 ccm Milch nur noch die Hälfte. Noch beträchtlichere Unterschiede ergaben sich bei pasteurisierter Milch.

Man hat nun versucht, die in der Milch vorkommenden anaeroben Organismen auch zahlenmäßig zu bestimmen.

So fand Rodella [1]) gewöhnlich 1—3 Anaerobier in 0,1 ccm Milch (10 bis 30 Keime je Kubikzentimeter), während Wolff [2]) sie in der Regel erst in mindestens 1 ccm nachzuweisen vermochte (1 Keim je Kubikzentimeter). Ein einziges Mal gelang es ihm auch bei Anwendung von 0,1 ccm Milch.

Barthel [3]) ermittelte als Höchstzahlen 20 Anaerobier in 1 ccm Milch. Meist benötigte er aber zum Nachweis 5 ccm; oft konnte er sogar aus 10—20 ccm keine Anaerobier züchten.

Nach Hussong und Hammer [4]) betrug in 15 Milchproben (11 past. und 4 roh), von denen 9 Proben Sporen in größerer Anzahl, 6 in geringerer Menge enthielten, das Maximum 4 Sporen je Kubikzentimeter, das Minimum 1 Spore in 50 ccm. In 27 Proben süßer Sahne (5 past. und 22 roh) und 2 Proben saurer Milch ergaben sich Höchstwerte von 10 Sporen je Kubikzentimeter, während das Minimum dem der 15 Milchproben entsprach. Bei 6 Proben kondensierter Buttermilch schwankte der Gehalt zwischen 2 und 20 Sporen je Kubikzentimeter.

Obgleich diese Resultate nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden können, da sie mit Hilfe der verschiedensten Methoden erzielt wurden, so geht doch eindeutig daraus hervor, daß anaerobe Organismen in geringen Mengen in Milch auftreten.

Es sind im Hochstfalle 30 Keime je Kubikzentimeter zu erwarten, im Mittel dürften es etwa 1—10 sein.

Neben dem quantitativen Nachweis ging das Bestreben nach einer genauen Ermittlung der Arten. Die Übersicht wurde jedoch durch Unklarheit des Systems, vor allem aber der Nomenklatur, sehr erschwert.

Nach Barthel [5]) sollen in der Hauptsache nur der unbewegliche Buttersäurebazillus Schattenfroh und Graßberger (Frankelscher Gasbazillus) und Bacillus putrificus Bienstock in Milch vorkommen. Diese Angaben wurden von anderen Forschern im wesentlichen bestätigt.

Schattenfroh und Graßberger [6]), Weigmann [7]), Lehmann-Neumann [8]) und Henneberg [9]) beobachteten als häufigsten Vertreter der Anaerobenflora den Fränkelschen Gasbazillus, der nach Staffe [10]) den brenzlich-schmirgeligen Geschmack der Milch verursachen soll, was von Einholz [11]) aber bestritten wird.

Klein [12]) entdeckte seinen Bacillus enteritidis sporogenes, der nach Zeißler und Raßfeld [13]) mit dem Fränkelschen Gasbazillus identisch ist, in 50% der untersuchten Milchproben, und Jochims [14]) isolierte letzteren sogar aus 75% der Proben.

Im Gegensatz hierzu wurde der Fränkelsche Gasbazillus in Marktmilch von Baltimore [15]) bei 20 Proben nur 2mal (10%) gefunden, dafür aber in überwiegendem Maße Bacillus putrificus verrucosus (80%).

In gleicher Weise ermittelte Barthel [16]) den Bac. putrificus Bienstock in 30% der Fälle, während der Fränkelsche Gasbazillus in 22% der untersuchten Proben vorkam; bei Meyn [17]) lagen die entsprechenden Zahlen bei 32 bzw. 26%.

---

1) Rodella, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 3. 1904. S. 504.
2) Wolff, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. 1908. S. 545.
3) Barthel, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 26. 1910. S. 15.
4) Hussong and Hammer, Dep. of Dairy Industrie, Jona State Coll., Amer. Journ. of Bact. Vol. 19. 1930. p. 87, 94.
5) Barthel, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 26. 1910. S. 14.
6) Schattenfroh und Graßberger, Arch. f. Hyg. Bd. 37. 1900. S. 54.
7) Weigmann, in: Handb. d. Milchk. v. Sommerfeldt. Wiesbaden 1909.
8) Lehmann-Neumann, Bakt. Diagnostik. München 1927.
9) Henneberg, l. c., S. 37.
10) Staffe, Molkerei-Zeit. Hildesheim. 1929. S. 1607.
11) Einholz, „Anaerobe Sporenbildner der Milch". Inaug.-Diss. Kiel 1934.
12) Klein, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 18. 1895. S. 737.
13) Zeißler und Raßfeld, „Die anaerobe Sporenflora der europäischen Kriegsschauplätze 1917". Jena 1928.
14) Jochims, l. c.
15) Bliss, l. c., p. 619. 16) Barthel, l. c. 17) Meyn, l. c.

Nach Angaben des ersteren und Kürsteiners [1]) soll allerdings die Jahreszeit neben der Menge, wie schon gesagt wurde, auch die Zusammensetzung der Flora nicht unbedeutend beeinflussen, und zwar insofern, als im Frühjahr und Vorsommer der Bac. putrificus haufiger als der Frânkelsche Gasbazillus festgestellt wurde, während im Herbst und Winter das Verhältnis umgekehrt war.

v. Freudenreich [2]) traf in Emmentaler-Kase einen anaeroben Organismus an, dem er den Namen Clostridium foetidum lactis beilegte. Dieser erzeugte in Milch eine kräftige Zersetzung der Eiweißstoffe, wobei ein charakteristischer Geruch nach Limburger-Kase auftrat. Bei genauerer Untersuchung im Verein mit Gfeller [3]) identifizierte er ihn als Bac. oedematis maligni. Barthel glaubt aber auf Grund der von den Forschern angegebenen kulturellen Eigenschaften dieses Bazillus und des Fehlens von Angaben über Pathogenitat annehmen zu können, daß es sich dabei um nichts anderes als den Bac. putrificus verrucosus gehandelt hat. Dies um so mehr, als v. Freudenreich am Schlusse der Arbeit bemerkt, daß sein Organismus mit einem von Weigmann [4]) isolierten, von diesem als Paraplectrum foetidum bezeichneten Bazillus identisch sein müsse. Rodella [5]) schreibt von der Anwesenheit „anaerober Fäulnisbakterien" in Weichkäsen (Allgauer, Tilsiter, Backstein), während Freudlich und Haltenberger [6]) von sog. „Stinkern" in Hartkasen, wobei es sich auch um Bac. putrificus verrucosus gehandelt haben kann, berichten.

Nach Henneberg [7]) soll der Bac. putrificus auch nicht selten in Schweizerkase als Schädling auftreten und mit dem Weigmannschen Paraplectrum foetidum aus Limburger- und Harzer-Käse identisch sein.

Außer über diese beiden anaeroben Sporenbildner, den Bac. putrificus verrucosus und den Frânkelschen Gasbazillus, wie sie jetzt allgemein in der deutschen Literatur bezeichnet werden, finden sich noch Angaben über einige andere, die mehr oder weniger häufig in Milch angetroffen wurden. Dies gilt in erster Linie für den „beweglichen Buttersäurebazillus", um dessen Erforschung sich besonders Schattenfroh und Graßberger [8]), Bredemann [9]), v. Klecki [10]) und Cunningham [11]) bemüht haben. Über ihn besteht heute zwar in systematischer Beziehung Klarheit, aber die Frage der Nomenklatur harrt noch der endgültigen Regelung. Während Bredemann den Organismus Bac. amylobacter nennt, hat ihm v. Klecki den Namen Bac. saccharobutyricus beigelegt.

Schattenfroh und Graßberger geben an, daß ihr „beweglicher" Buttersäurebazillus wesentlich seltener vorkomme als der „unbewegliche" (Fränkelscher Gasbazillus). So haben sie ersteren nur 2 mal in 80 Milchproben (2,5%) gefunden.

Tissier und Gasching [12]) entdeckten bei ihren Untersuchungen über die Zersetzung der normalen Milch einen anaeroben Buttersäurebazillus, den sie Bac. lactopropylbutyricus non liquefaciens nannten. Dieser Organismus, der sich vom Bac. saccharobutyricus nur dadurch unterschied, daß er nach Angaben der Forscher Laktose nicht vergor, wohl aber Glukose und Saccharose, wurde aus 8 von 10 Milchproben (80%) isoliert.

Während Barthel [13]) den Bac. saccharobutyricus etwa ebensooft wie Schattenfroh und Graßberger ihren beweglichen Buttersäurebazillus in 2 von 83 Milchproben (1,4%) beobachtete, und Einholz [14]) ihn aus der Milch nie,

---

[1]) Kürsteiner, Schweizer Milch-Zeit. Nr. 10. 1932. S. 35.

[2]) v. Freudenreich, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 1. S. 54; Bd. 28. S. 316.

[3]) Gfeller, Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1896. S. 136.

[4]) Weigmann, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. S. 150.

[5]) Rodella, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 16. 1906. S. 52.

[6]) Freudlich und Haltenberger, Süddtsch. Molkerei-Zeit. Nr. 31. 1932. S. 970.

[7]) Henneberg, Handb. d. Gärungsbakt. Bd. 2. Berlin 1926.

[8]) Schattenfroh und Graßberger, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 5. 1899. S. 209, 697; Arch. f. Hyg. Bd. 37. S. 54.

[9]) Bredemann, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. S. 385 ff.

[10]) v. Klecki, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. S. 169 ff.

[11]) Cunningham, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. S. 25 und 481; Bd. 83. S. 1 und 219.

[12]) Tissier et Gasching, Ann. de l'Inst. Past. T. 17. 1903. p. 540.

[13]) Barthel, l. c. [14]) Einholz, l. c.

in Kochkäse nur 1mal fand, kam er in 65% der in Baltimore untersuchten Marktmilchproben vor. Auch Jochims[1]) glaubt annehmen zu können, daß unter den 52% apathogenen Nichtfäulniserregern, die er aus 25 Milchproben gewann, mehrfach der Bac. saccharobutyricus gewesen sei. Seine genaue Identifizierung erfolgte jedoch nicht.

Im Molkenschlamm bei der Tilsiter Käserei fand Weißmann[2]) neben Coli als gefährliche Infektion zahlreiche anaerobe Sporenbildner, vor allem Bac. saccharobutyricus, den auch v. Klecki[3]) im Quargelkäse und Gratz[4]) in aus dauerpasteurisierter Milch hergestellten Hartkäsen nachwiesen.

Wolff[5]) stellte bei Untersuchungen betreffs der Veränderung der Milch während des sog. Inkubationsstadiums außer dem Bac. putrificus häufig den unbeweglichen Buttersäurebazillus fest. Außerdem bemerkte er ein langes Stäbchen, das er für möglicherweise identisch mit Bac. lactopropylbutyricus non liquefaciens hielt, und einen tetanusähnlichen Bazillus. Bei letzterem wird es sich allem Anschein nach um den heute als Bac. tetanomorphus bezeichneten Organismus gehandelt haben. Diesen konnte auch Meyn[6]) aus Milch isolieren.

Über die Anwesenheit pathogener anaerober Sporenbildner in Milch finden sich in der Literatur, vom Fränkelschen Gasbazillus abgesehen, nur vereinzelte Angaben. Mithin scheint ihr Vorkommen äußerst gering zu sein.

1933 wurde aus Dortmund von 4 Todesfällen Mitteilung gemacht, bei denen es sich nach medizinischem Urteil um Botulismus gehandelt hat. Dieser sollte durch in verlöteten Blechbüchsen aufbewahrten Kochkäse verursacht sein. Im allgemeinen dürften jedoch Botulinusvergiftungen durch Milcherzeugnisse zu den größten Seltenheiten gehören, obgleich gelegentlich das Vorhandensein des Erregers in Milch festgestellt wurde. So gibt Nevin[7]) an, den Bac. botulinus aus Quargproben (Cottage cheese) isoliert zu haben, während Henneberg[8]) und Demeter[9]) über dessen Auftreten in Milch berichten.

Auch Einholz[10]) spricht von der Anwesenheit des Bac. botulinus und des Pararauschbrandbazillus in einigen der geprüften Milchproben, ohne daß jedoch die Angaben über deren Identifikation die gezogenen Schlußfolgerungen rechtfertigten. Jochims[11]) züchtete den Bazillus des malignen Ödems aus 2 von 16 Milchproben (12,5%), außerdem aus 1 Probe den Bac. novyi (Bac. oedematiens).

Im wesentlichen kommen also 3 Arten von anaeroben Sporenbildnern in Milch vor: Bac. putrificus verrucosus, der Fränkelsche Gasbazillus und Bac. saccharobutyricus.

C. Aufgabe und Plan der Untersuchungen.

Das Ziel vorliegender Arbeit bestand darin, die anaeroben Organismen der Milch quantitativ zu erfassen und gleichzeitig die einzelnen Arten zu diagnostizieren. In Anbetracht der Schwierigkeit einer exakten Identifikation erschienen Schnellmethoden nicht genügend zuverlässig; das Hauptgewicht mußte daher auf einen zwar zeitraubenden, aber einwandfreien Nachweis der einzelnen Arten gelegt werden.

Außerdem war zu prüfen, ob eine Pasteurisierung das Wachstum der Anaerobier beeinflußt. Man konnte daran um so eher denken, weil bei der

---

1) Jochims, l. c.
2) Weißmann, Molkerei-Zeit. Hildesheim. Heft 47. 1933. S. 807 ff.
3) v. Klecki, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. 1896. S. 169.
4) Gratz, Süddtsch. Molkerei-Zeit. Jahrg. 52. 1931. S. 1270.
5) Wolff, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. S. 545.
6) Meyn, Milchwirtsch. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 426 ff.
7) Nevin, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1933. S. 115.
8) Henneberg, Handb. d. Gärungsbakt. Bd. 2. Berlin 1926.
9) Demeter, Deutsche Nahrungsmittel-Rundschau. Nr. 16. 1932. S. 9.
10) Einholz, Anaerobe Sporenbildner der Milch. Inaug.-Diss. Kiel 1934.
11) Jochims, Anaerobe Sporenbildner in Milch und Molkereiprodukten. Inaug.-Diss. Hannover 1933.

Züchtung eine systematische Erhitzung angewandt wird, um die Sporen zum Keimen zu bringen.

Im allgemeinen erfolgt die Anreicherung der Organismen durch Zugabe einer gewissen Milchmenge zu einem Anreicherungsnährboden. Dies hat den Nachteil, daß nur verhältnismäßig wenig Milch zur Anwendung kommen kann, weil bei Verwendung größerer Mengen das Nährsubstrat zu sehr verdünnt und durch die starke Säuerung der Milch das Wachstum der Anaerobier gehemmt wird. Dadurch könnten aber gewisse Arten, die nur in geringer Zahl in Milch vorhanden sind, der Auffindung entgehen. Infolgedessen mußte eine Methode gefunden werden, die die Prüfung größerer Milchmengen zu gleicher Zeit gestattet, ohne aber die erwähnten Nachteile zu besitzen. Als solche schien die Verwendung des Schleudersedimentes geeignet, da sich bekanntlich beim Zentrifugieren von Milch der größte Teil der Bakterien, also auch der anaeroben Sporenbildner, mit den Schmutzpartikeln im Sediment ansammelt.

Dieses Verfahren fand neben dem obenerwähnten bei den Untersuchungen Verwendung. Weiterhin wurde auch die von Weinzirl[1]) vorgeschlagene Methode zum Nachweis anaerober Bakterien herangezogen. Ein Vergleich dieser mit den kulturellen Verfahren sollte ein Urteil über ihre Zuverlässigkeit ermöglichen.

Die Untersuchungen hätten jedoch lediglich theoretisches Interesse gehabt, wenn nicht eine allgemeine bakteriologische Untersuchung der Milch eine Brücke zu den im praktischen Betrieb üblichen geschlagen hätte. Hier mußte nachgewiesen werden, ob eine starke Anaerobenflora auch eine im allgemein üblichen Sinne verschmutzte Milch anzeigt, oder ob bei anaeroben Organismen andere Maßstäbe anzulegen sind.

D. Experimenteller Teil.

I. Material.

Es gelangten insgesamt 47 Handelsmilchproben zur Untersuchung.

Davon waren:

3 Proben Vorzugsmilch,
2 „ Vorzugsmilch, die im Laboratorium pasteurisiert worden war,
2 „ Markenmilch,
7 „ rohe Marktmilch,
33 „ pasteurisierte Marktmilch (Trinkmilch).

Sämtliche geprüfte Marktmilch stammte aus dem städtischen Milchhof, wo sie vor Abgabe an den Händler nach dem Kurzzeiterhitzungsverfahren 43 Sek. bei 73° C pasteurisiert wird.

Die Mehrzahl der Proben wurde in den üblichen ½-l-Flaschen mit Pappverschluß oder in mit Watte verschlossenem sterilen Erlenmeyer, da die pasteurisierte Milch noch nicht restlos in Flaschen in den Handel kommt, in Milchgeschäften der verschiedensten Stadtteile gekauft, wo an Ort und Stelle sogleich eine Feststellung der Aufbewahrungstemperatur stattfand.

2 Proben (Nr. 8 und 23) entstammten den auf der Straße herumfahrenden Milchhandwagen, von denen aus die Haushaltungen beliefert werden.

In 3 Fällen (Nr. 12, 15 und 34) handelte es sich um Flaschenmilch, die im Milchhof unmittelbar nach der Tiefkühlung maschinell abgefüllt und mit einer festen Aluminiumkapsel verschlossen war. Es sollte geprüft werden, welche Bedeutung diesem Verschluß in bakteriologischer Hinsicht zuzuschreiben ist.

Weitere 5 Proben (Nr. 3/3 a, 16/16 a, 25/25 a, 33/33 a und 39/39 a) — es handelte sich um Milch, an der der Erhitzungseffekt festgestellt werden sollte — wurden mit

[1]) Weinzirl, Journ. of Bact. Vol. 7. 1923. p. 357.

Erlaubnis des Betriebsleiters direkt im Milchhof entnommen. Das geschah folgendermaßen:

Die rohe Marktmilch wurde nach Passierung der Reinigungszentrifuge aus einem an der Eintrittsstelle der Milch in den Pasteur befindlichen Hahn, der zuvor durch Alkohol oberflächlich sterilisiert worden war, in sterilem Erlenmeyer entnommen. Nach der Zeit, die erfahrungsgemäß die Milch zum Durchlaufen des Pasteurs benötigt, wurde die nunmehr pasteurisierte Milch in gleicher Weise am anderen Ende des Apparates abgezapft. Beide Proben wurden sofort in Leitungswasser gekühlt. Die Berücksichtigung der Durchlaufszeit erfolgte deshalb, weil möglichst die gleiche Milch zur Untersuchung kommen sollte, was für die Beurteilung des Wirkungsgrades der Erhitzung notwendig war.

Von der untersuchten rohen Marktmilch stellten 2 Proben (Nr. 37 und 38) Milch dar, die gerade im Milchhof eingeliefert worden war und die mit Erlenmeyer direkt aus den Kannen entnommen wurden. Dabei fand absichtlich einmal Milch Berücksichtigung, deren Lieferant nach dem Untersuchungsprotokoll des Milchhofes als „sauber" bekannt war (Nr. 37), das andere Mal eine solche, bei der die Sauberkeit erfahrungsgemäß noch nicht den wünschenswerten Grad der Vollkommenheit erreicht hatte (Nr. 38).

Die Markenmilch (Nr. 18 und 35) wurde fertig in Flaschen bezogen. Sie entstammte 2 Gutsbetrieben der näheren Umgebung.

Die Vorzugsmilchproben (Nr. 6, 26 und 29) kamen aus dem Rassestall des Tierzuchtinstitutes der Universität.

Die Pasteurisierung der Vorzugsmilch (Nr. 26 a und 29 a) erfolgte in der Weise, daß sie zum Zwecke einer schnelleren und gleichmäßigeren Erwärmung auf eine Reihe steriler dünnwandiger Reagenzgläser verteilt wurde und diese dann im Wasserbad 43 Sek. auf 73° C erhitzt wurden. Nach der Pasteurisierung erfolgte eine Abkühlung der Röhrchen in Leitungswasser.

Die ausnahmslos während der Vormittagsstunden gekauften bzw. entnommenen Milchproben gelangten auf raschestem Wege in das Untersuchungslaboratorium, wo sie sofort verarbeitet wurden. Dadurch wurde erreicht, daß die Milch, namentlich an heißen Sommertagen, mit kaum höherer Temperatur als bei der Entnahme zur Untersuchung kam; eine wesentliche Vermehrung der Keime also nicht stattgefunden haben konnte.

II. Untersuchungsmethoden.

1. Der qualitative Nachweis der anaeroben Sporenbildner.

Die Gesamtflora der anaeroben Sporenbildner zerfällt auf Grund der physiologischen Eigenschaften in 2 Hauptgruppen, zwischen denen natürlich Übergänge bestehen, nämlich eine vorwiegend kohlehydratvergärende und eine eiweißabbauende. Diesem Umstande wurde bei der Züchtung in der Weise Rechnung getragen, daß folgende 3 Anreicherungsnährböden nebeneinander zur Anwendung kamen:

1. Eier-Fleisch nach Rettger [1]) (für Eiweißzersetzer);
2. Leber-Bouillon nach Smith [2]) (für Eiweiß- und Kohlehydratzersetzer);
3. Kartoffelbrei nach Ruschmann [3]) (für Kohlehydratzersetzer).

Nachdem eine Reihe von Vorversuchen mit pasteurisierter Milch angestellt worden war, um passende Impfmengen ausfindig zu machen, wurde folgende Versuchsanordnung getroffen: Je 2 Kulturröhrchen jedes der 3 Anreicherungsnährböden, die zur Vertreibung des Sauerstoffs 10 Min. lang ausgekocht worden waren, wurden mit 1 ccm der zu untersuchenden Milch versetzt. Für innige Durchmischung mit dem Substrat wurde Sorge getragen. In der gleichen Weise erfolgte eine Beimpfung der Röhrchen mit Sedimentaufschwemmung. Deren Gewinnung geschah folgendermaßen:

100 ccm der Milchprobe wurden in einem sterilen, zum Schutz gegen Luftinfektion mit einer sterilisierten Papierkappe verschlossenen Zentrifugen-

---

[1]) Rettger, Journ. Biol. Chem. Vol. 2. 1906. p. 75.
[2]) Smith, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 7. S. 502.
[3]) Ruschmann, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 75. 1928. S. 409.

röhrchen bei 2500 Umdrehungen 10 Min. lang zentrifugiert. Nach vorsichtigem Abgießen der Milch wurden zu dem am Boden befindlichen Sediment 3 ccm steriles Wasser gegeben, in diesem das Sediment aufgeschwemmt und die Suspension mit Hilfe einer graduierten sterilen Pipette gleichmäßig auf die 6 Röhrchen verteilt. Dabei kam auf jedes Röhrchen ca. 0,5 ccm Flussigkeit, was dem Sediment einer Milchmenge von etwa 17 ccm entspricht.

Von den 2 in geschilderter Art beimpften Rohrchen eines jeden Nährbodens wurde das eine unerhitzt, das andere nach vorausgegangener Erhitzung von 20 Min. auf 80° C 48 Std. bei 37° C anaerob bebrütet.

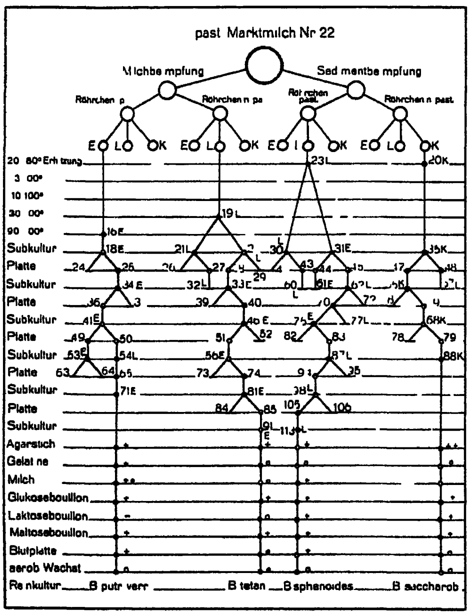


Abb. 1. E = Eier-Fleisch; L = Leberbouillon; K = Kartoffelbrei; ⊥ nicht weitergeführt, da nicht gewachsen oder auf Parallele besser vorhanden; + = vergoren, verflüssigt, koaguliert, bei Blutplatte = Hämolyse; o = Milch verdaut; + = bei Agarstich: mäßiges Wachstum; ++ = bei Agarstich: sehr gutes Wachstum.

Sobald reichliche Versporung beobachtet werden konnte, wurde etwa 1 ccm des Nährsubstrates zur Anlegung einer Subkultur in ein steriles Röhrchen des gleichen Nährbodens übertragen und pasteurisiert.

Die im weiteren Verlauf der Kultivierung durchgeführten Erhitzungen, die gleichzeitig einer Prüfung der Hitzeresistenz der Anaerobiersporen dienten, sowie die allgemeine Methodik der Reinzüchtung entsprachen weitgehend denen von Glathe[1]).

Von den jeweils eingeschalteten Wasseraufschwemmungen, die zum Zwecke der Abtötung der vegetativen Formen und einer Auswahl der tüchtigsten und widerstandsfähigsten Sporen pasteurisiert worden waren, wurden mittels einer Kapillarpipette 1—3 Tropfen auf eine vorher ½ Std. bei 37° C getrocknete Agar-Platte gebracht und mit einem Drigalski-Spatel über 2—3 Platten ausgestrichen. Dadurch ließ sich mit Leichtigkeit eine möglichst dünne Aussaat erzielen, was für eine schnelle Isolierung der Organismen von Vorteil war. Als Nährboden diente an Stelle des von Zeißler empfohlenen Traubenzucker-Blutagars gewöhnlicher Fleischextrakt-Agar mit einem Zusatz von 0,5% Glukose.

Nach 48stünd. anaerober Bebrütung wurden besonders charakteristisch wachsende, isoliert liegende Kolonien von den Platten abgestochen und in entsprechende Kulturröhrchen übertragen. Da auf den Platten nur selten Versporung eintrat, mußte hier auf eine Erhitzung verzichtet werden.

Der Wechsel zwischen Kultur in flüssigem Nährboden und der Platte wurde solange fortgesetzt, bis Reinkulturen vorlagen. Als solche konnten

---

[1]) Glathe, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1934. S. 70.

im allgemeinen die Stämme betrachtet werden, die bei dreimaliger Plattenkultur in ihren Merkmalen übereinstimmten.

Die Identifizierung der Organismen erfolgte auf Grund ihrer morphologischen, kulturellen und physiologischen Eigenschaften. Zur Prüfung der letzteren wurden junge, in lebhafter Entwicklung stehende Kulturen in sterile Milch, Gelatine und Glukose-, Laktose- und Maltose-Bouillon, die mit Fermentationsröhrchen versehen waren, eingeimpft und anaerob bebrütet. Fernerhin fand regelmäßig ein Glukose-Agarstich und Züchtung auf der Traubenzucker-Blutagarplatte[1]) statt. Durch Ausstrich auf Schrägagar und Bebrütung bei Luftzutritt wurde auf Wachstum unter aeroben Bedingungen geprüft. Zum näheren Verständnis des Geschilderten mag beigefügte Abb. 1 dienen, die schematisch den Verlauf der Untersuchungen bei Probe Nr. 22 zeigt.

Da die anaeroben Organismen zwar nicht luftscheu, aber doch in hohem Maße empfindlich gegen Sauerstoff sind, hat jede Methode das Bestreben, den Sauerstoff von den wachsenden Kulturen fernzuhalten. Zeißler[2]) erreicht dies durch Evakuierung, McIntosh und Fildes[3]) dadurch, daß sie die Luft durch Wasserstoff ersetzten. Das zuletzt genannte Verfahren wurde bei vorliegenden Untersuchungen ausschließlich verwendet.

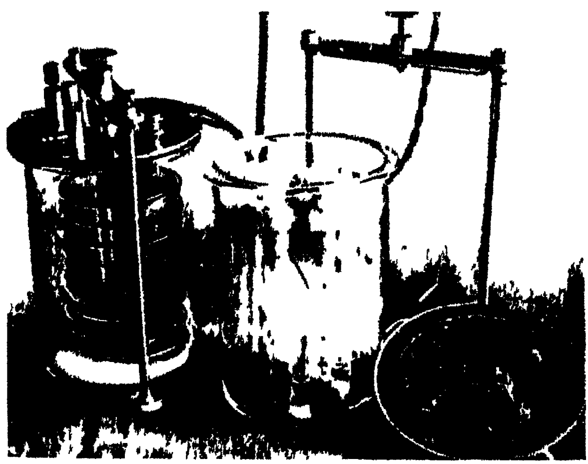


Abb 2.

Zur Aufnahme der Platten und Kulturröhrchen während der Bebrütung dienen starkwandige, zylindrische Glasgefäße von etwa 20 cm Höhe und 13 cm Durchmesser, die am oberen Rande plangeschliffen sind.

Nach der Beschikkung wird das Gefäß mit einem genau passenden Metalldeckel verschlossen. Letzterer wird durch ein besonderes Gestell fest auf die gefettete Gummidichtung aufgepreßt. Der Deckel besitzt in der Mitte 2 gasdichte Durchbohrungen, die ein Zu- und Ableiten von Gasen gestatten.

Vor der Bebrütung wird zunächst der größte Teil der Luft durch den Wasserstoffstrom aus dem Gefäß gespült, dann wird die Spirale elektrisch auf etwa 250° C geheizt. Eine Kupferumhüllung nimmt die Strahlungswärme auf und verhindert, daß die Temperatur des Gefäßinnern über 37° C ansteigt. In Gegenwart eines Katalysators (Palladiumasbest) werden die letzten Spuren von Sauerstoff chemisch an Wasserstoff gebunden und dadurch beseitigt.

---

[1]) J. Zeißler, Zur Züchtung des Bac. phlegmon. emphysemat. E. Fränkel. (Dtsch. med. Wochenschr. Nr. 28. 1917.)

[2]) Zeißler und Raßfeld, l. c., S. 19.

[3]) McIntosh and Fildes, Med. Res. Comm. Spec. Rep. Ser., London, H. M. Stat. Offic. Nr. 12. 1917. p. 66.

Ein Indikator (alkalische Methylenblau-Glukoselösung) zeigt an, ob die Absperrung des Sauerstoffs wirksam gewesen ist.

Die Abbildungen 2 und 3 mogen das Gesagte veranschaulichen.

Zum molkereimäßigen Nachweis anaerober Organismen in Milch wurde in letzter Zeit häufig die Weinzirl-Probe empfohlen. Ihre Durchführung geschah in folgender Weise:

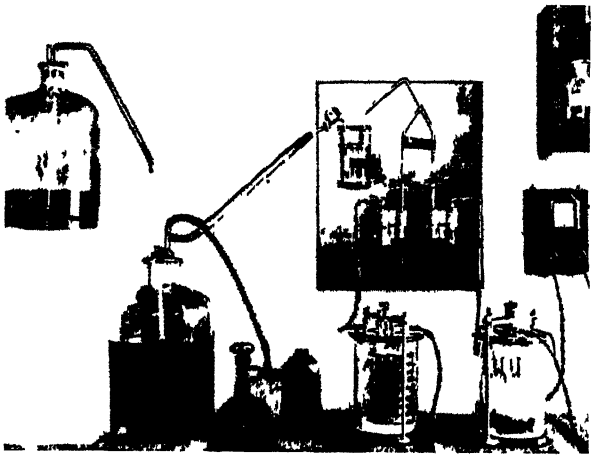


Abb 3

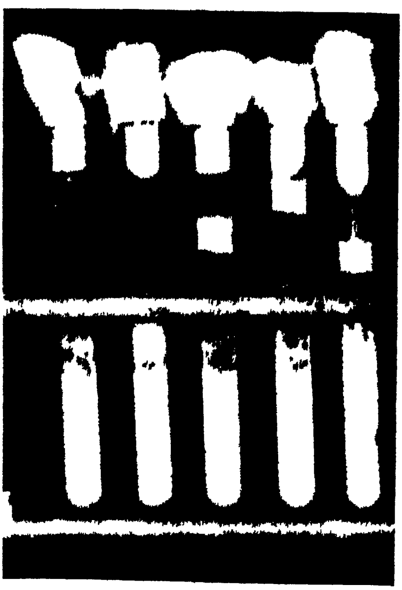


Abb. 4.

Je 10 ccm der zu untersuchenden Milch wurden nach kraftigem Schutteln in 5 sterilisierte, mit je 1,5 ccm festem Paraffin beschickte Reagenzglaser gefullt und zum Zwecke der Abtotung aller Nichtsporonbildner im Wasserbad auf 80° C erhitzt. Eines der Rohrchen erhielt zuvor einen Zusatz von 1 g sterilem Kalziumkarbonat[1], wodurch geprüft werden sollte, ob die Neutralisierung der entstehenden Sauren einen Einfluß auf das Wachstum der Anaerobier ausubt.

Bei der Erhitzung schmolz das am Grunde sitzende Paraffin, stieg nach oben und bildete nach dem Erkalten einen etwa 1 cm starken, festen Pflock, der die Milch hermetisch von der Außenluft abschloß.

Die Aufbewahrung der Rohrchen erfolgte im Brutschrank bei 37° C. Die Probe wurde als positiv gewertet, wenn nach Ablauf von 3 Tagen mindestens 2 der Rohrchen Auftrieb zeigten, d. h. das durch das Wachstum von anaeroben Sporenbildnern gebildete Gas den Paraffinpfropf emporgeschoben hatte.

2. Die quantitative Bestimmung der anaeroben Sporenbildner.

Der quantitative Nachweis anaerober Keime bietet große Schwierigkeiten, da diese bei der Züchtung erst in besonderen Nährböden angereichert werden müssen. Einzellkulturen haben zudem gelehrt, daß einzelne Organismen nur in den seltensten Fällen Kulturen liefern. So sollen z. B. nach Dorner[2]) nur 19—45‰ der Amylo-

---

[1]) Makrinow, Über die Wirkung der Neutralisation von Nährmedien mit Kreide auf die Aktivität von milchsäurebildenden Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 37. 1913. S. 609.)

[2]) Dorner, Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 38. 1924. S. 175.

bakterzellen entwicklungsfähig sein. Um möglichst genaue Werte zu bekommen, wurden 4 Methoden nebeneinander verwendet.

Zunächst wurden Milchverdünnungen in der üblichen Weise hergestellt. Zur Erzielung gut gemischten Impfmaterials wurden jeweils 10 ccm der Verdünnung in geeichten Flaschen mit 90 ccm sterilen Wassers vermischt und kräftig geschüttelt. Darauf wurden Petrischalen wie bei jeder aeroben Keimzählung angelegt und diese in der Wasserstoff-Atmosphäre bei 37° C bebrütet. Als Nährboden diente 1,5proz. Agar mit einem Zusatz von 0,5% Laktose.

Hier mußten also alle fakultativ anaeroben Keime zur Entwicklung kommen.

Für die zweite Methode diente das qualitative Züchtungsverfahren als Grundlage, und zwar wurden die gleichen Verdünnungen mit und ohne Pasteurisierung in die verschiedenen Anreicherungsnährböden eingeimpft. Die entsprechenden Verdünnungen wurden dann als positiv angesehen, wenn obligat anaerobe Organismen zur Reinkultur gebracht werden konnten; der reziproke Wert der höchsten Verdünnung wurde als Keimzahl festgesetzt.

Um mit Hilfe des Sediments zahlenmäßige Bestimmungen ausführen zu können, mußten auch hiervon entsprechende Verdünnungen hergestellt werden. Dazu wurde ein zweites Röhrchen mit 100 ccm Milch zentrifugiert. Das mit 10 ccm sterilem Wasser aufgenommene Sediment wurde in einer Verdünnungsflasche auf 100 ccm aufgefüllt und von dieser 10^{-1}-Verdünnung die höheren angelegt. Damit nun die Verdünnungsserien der Anreicherungsröhrchen der mit „unverdünntem“ Sediment beschickten Serie (10^0) entsprachen, mußte jedes Röhrchen mit 1,7 ccm Flüssigkeit beimpft werden. Somit waren also theoretisch in jedem Anreicherungsröhrchen äquivalent:

bei Verdünnung	10^0	0,5 ccm	Flüssigkeit	17	ccm	Milch
„	„	10^{-1}	1,7 „	„	1,7	„	„
„	„	10^{-2}	1,7 „	„	0,17	„	„
„	„	10^{-3}	1,7 „	„	0,017	„	„

Die Zahl der in der Milch anwesenden anaeroben Keime wurde wie oben ermittelt.

Als letzte Möglichkeit eines quantitativen Nachweises der Anaerobier diente die W e i n z i r l - Probe, und zwar wurden die jeweiligen Verdünnungen in die bei der Methode üblichen Milchröhrchen übertragen.

Sämtliches beimpfte Material wurde 48 Std. lang bei 37° C in der Wasserstoff-Atmosphäre bebrütet.

3. Die Untersuchung der aeroben Flora.

Um die geprüften Milchproben möglichst vollständig zu charakterisieren, wurden einige Untersuchungen über ihren Gehalt an aeroben Organismen beigefügt.

Die Feststellung der aeroben Gesamtkeimzahlen erfolgte ausschließlich mittels des K o c h schen Plattenverfahrens. Eine Anwendung der direkten mikroskopischen Methode nach B r e e d oder S k a r verbot sich von vornherein, da in erster Linie pasteurisierte Milch zu den Prüfungen herangezogen wurde. Als Nährboden diente Fleischextrakt-Agar + 0,5% Laktose, bei der zweiten Hälfte der Proben wurde eine Parallelreihe mit Fleischextrakt-Agar + 0,5% Glukose angelegt. Die Bebrütung der Platten erfolgte im Brutschrank bei 37° C, die Auszählung der Kolonien nach 48 Std.

Tabelle 1.

Organismus	Morphologie	
	Wachstum auf der Platte	Wachstum im Kulturröhrchen
Bac. putrificus verrucosus Zeißler	W. I.: Vorherrschend. Gelblich-weiße, schmierig glänzende, erhabene Warzen mit langen, wurzelförmigen Auslaufern. W. II.: Stark erhabene, knopfförmige, trüb durchscheinende Kolonien mit dichtem, flachen, farblosen Haarkranz. Oberfläche mattglänzend. W. III.: Selten. Sehr flache, rasenartige Kolonien ohne Ausläufer. Oberfläche schwach glänzend, eben. Stark putrider Geruch.	Eierfleisch-Nährboden: Kurzes, kräftiges, lebhaft bewegliches Stäbchen mit abgerundeten Enden. Nach 12 Std. Ausbildung ovaler, subterminaler Sporen, die den Zelleib tennisschlägerartig auftreiben[1]). Häufig Wachstum in Form langer Ketten[2]). Dies aber kein Artmerkmal des Stammes, da nicht konstant.
Bac. saccharobutyricus v. Klecki	Flache, unregelmäßig runde Kolonien mit glattem, wellig gebuchtetem Rand. Oberfläche eben, mittelstark glänzend. Junge Kolonien farblos mit mosaikartiger Zeichnung. Mehrtägige Kolonien schmutzig grau oder weißlich. Geruch nach Buttersäure.	Kartoffelbrei: Gerades, schnell bewegliches Stäbchen mit abgerundeten Enden. Kräftiger als Bac. putrificus verrucosus. Neigung zu Granuloseeinlagerung (Jodreaktion). Länglich ovale Sporen, subterminal oder zentral gelagert, den Zelleib kahnförmig auftreibend (Clostridien)[3]). In Leberbouillon gewöhnlich bald Zerfall des Stäbchens und Ausbildung freier Polkörperchen [4]). Gonidienbildung im Sinne von Löhnis. Keine Endosporenentwicklung.
Bac. tetanomorphus	Kleine, runde, flach gewölbte, trüb durchscheinende Kolonien. Oberfläche matt glänzend, mit feiner, gelblichweißer Punktierung. Mehrtägige Kolonien zeigen mosaikartige Zeichnung.	Leberbouillon: Kräftiges, ziemlich langes, gerades, bewegliches Stäbchen mit abgerundeten Enden. Die große, kreisrunde, endständige Spore verleiht dem Organismus das Aussehen eines Paukenschlägels[5]).
Bac. amylobacter Zeißler (Bac. tertius Henry)	Kleine, fast kreisrunde, flach gewölbte, ganzrandige, farblose Kolonien mit schwacher Zeichnung. Ähnlich denen des Bac. tetanomorphus.	Eierfleisch-Nährboden: In jungen Kulturen schlankes, kurzes, lebhaft bewegliches, oft leicht gebogenes Stäbchen mit abgerundeten Enden. Während der Sporenentwicklung merklich verlängert. Die stets endständig angeordneten Sporen sind auffallend groß und von länglich-ovaler Form[6]).
Bac. sphenoides	Die Kolonien ähneln sehr denen von Bac. tetanomorphus und Bac. amylobacter. Sie sind sehr klein, kreisrund, trüb durchscheinend und zeigen häufig feine, weißliche Granulierung.	Eierfleisch-Nährboden: Sehr kleines, schlankes, lebhaft bewegliches, an beiden Enden zugespitztes Stäbchen. Im Jugendstadium häufig zu langen Ketten angeordnet. Die sich entwickelnde große, runde, fast endständige Spore treibt das eine Ende mächtig auf, während sich das andere Ende noch zuspitzt. Dadurch erhält der versporte Organismus die Form eines Keiles[7]).

Zeichenerklärung: W. I.: = Wuchsform I; W. II.: = Wuchsform II; W. III.: = Wuchsform III.

[1]) Vgl. Abb. 1, Taf. I. [2]) Vgl. Abb. 8, Taf. I.

Tabelle 1.

Physiologie								
Aerobes Wachstum	Glukose	Maltose	Laktose	Blutplatte	Gelatine	Milch	Agar-Stich	Hitzeresistenz d. Sporen
0	+	+	0	Hämolyse	verflüss.	koaguliert, verdaut	mäßiges Wachstum	90′ 100° C
0	—	—	—	0	0	nach 3 Tagen koaguliert	intensives Wachstum. Starke Gasbildung. Zersprengen des Agar-Zylinders.	3′—10′ 100° C
0	—	—	0	0	0	gelegentlich Koagulation	mäßiges Wachstum	60′—90′ 100° C
0	+	—	+	0	0	nach 3 Tagen koaguliert	gutes Wachstum, mäßige Gasbildung	3′—10′ 100° C
0	+	+		schwache Hämolyse	0	langsame Koagulation	gutes Wachstum, keine Gasbildung	10′ 100° C

[3]) Vgl. Abb. 2, Taf. I.
[4]) Vgl. Abb. 3, Taf. I.
[5]) Vgl. Abb. 4, Taf. I.
[6]) Vgl. Abb. 5, Taf. I.
[7]) Vgl. Abb. 6, Taf. I.

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Organismus	Morphologie	
	Wachstum auf der Platte	Wachstum im Kulturröhrchen
Pectinobacter amylophilum Makrinow	Grauweiße, unregelmäßig runde, flache Kolonien mit gewelltem oder gelapptem Rand. In der Mitte der Kolonie meist eine kegelförmige Erhöhung oder muldenartige Vertiefung. Dicht am Rande ein unregelmäßig hoher Ringwall. Mosaikartige Tafelung	Kartoffelbrei: Mittellanges, schlankes, gerades lebhaft bewegliches Stäbchen mit abgerundeten Enden. Bei beginnender Sporenbildung keulenförmiges Anschwellen des einen Endes[8]). Die großen ovalen, oft schief liegenden Sporen erscheinen gefärbt sehr plastisch. Der breite Rand trägt dunklere Färbung als der übrige Teil des Stäbchens, während das Innere der Spore von einem Schleier überzogen zu sein scheint

[8]) Vgl. Abb. 7, Taf. I

Unter den hierbei erfaßten Organismen sind die zur Gruppe „Bacterium coli" gehörigen Arten von besonderem Interesse. Zu ihrem speziellen Nachweis dienten 2 Methoden:

1. Bromthymolblau-Laktoseagarplatte mit Trypaflavin[1]),
2. McConkey-Bouillon[2]).

Die Ergebnisse der ersteren Methode, der in Deutschland allgemein üblichen, wurden der Beurteilung der Milch zugrunde gelegt. Sie beruht auf dem Nachweis der Säuerung der Coli-Kolonien, was durch Farbumschlag des Nährbodens angezeigt wird. Die Trypaflavin-Dichte von 1 : 20 000, wie sie Klimmer angibt, hatte sich in Vorversuchen als unzureichend erwiesen insofern, als das Aufkommen zahlloser anderer, oft nichtsäuernder Bakterienkolonien beobachtet wurde. Das gleiche hatte auch Ruhmekorf[3]) festgestellt, der auf Grund mehrerer vergleichender Untersuchungen als günstigste Trypaflavin-Konzentration 1 : 10 000 angibt. Seinem Vorschlag gemäß wurde der Nährboden bereitet.

Die Feststellung des Colititers geschah generell durch Auszählung aller gelben Kolonien, da nach Klimmer alle säuernden Kolonien auf der Bromthymolblau-Agarplatte als Coli gewertet werden müssen.

Bei McConkey-Bouillon wird die Bildung von Gas als Nachweis für Bact. coli benutzt. Als Hemmungsmittel verwendet man 0,5% Natriumtaurocholat. Durch Zusatz geringer Mengen von Säurefuchsin kann auch hierbei gleichzeitig an einer auftretenden Rötung des Substrates die Säuerung nachgewiesen werden.

Die Beschickung der McConkey-Röhrchen erfolgte ähnlich wie bei der Plattenmethode mit je 1 ccm der Verdünnung 10^0 bis 10^{-6}. Durch Anlegung je eines Parallelröhrchens konnte eine um 50% größere Genauigkeit und bessere Annäherung an den absoluten Coli-Wert erzielt werden als bei nur 1 Röhrchen.

Da die verschiedenen in Milch vorkommenden Organismen sehr mannig-

[1]) Klimmer, Haupt und Borchers, Milchw. Forschung. Bd. 9. Heft 1/2. 1929. S. 236—248.

[2]) McConkey, Journ. of Hyg. Vol. 6. 1906. p. 385—407.

[3]) Ruhmekorf, Milchw. Forschung. Bd. 11. S. 600.

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Aerobes Wachstum	Physiologie							
	Glukose	Maltose	Laktose	Blutplatte	Gelatine	Milch	Agar-Stich	Hitzeresistenz d. Sporen
+	-	-	+	0	0	schnelle Gerinnung, starke Gasbildung	gutes Wachstum und Gasbildung	60′ 100° C

faltige Stoffwechselprodukte zu erzeugen vermögen, können sie die normale Tätigkeit der Milchsäurebakterien nachhaltig beeinflussen, und das um so mehr, wenn diese durch die Pasteurisierung vernichtet wurden. Es erschien daher angezeigt, jeweils den Säuregrad der Milch zu bestimmen.

Nach einer von Morres[1]) vorgeschlagenen Modifizierung des Soxhlet-Henkelschen Verfahrens wurde in der Weise vorgegangen, daß 20 ccm Milch im Becherglas unter Zusatz von 1 ccm Phenolphthaleinlösung mit n/10 NaOH bis zur schwachen Rosafärbung titriert wurden. Durch Multiplikation der Anzahl zur Neutralisation verbrauchten Kubikzentimeter n/10 NaOH mit 2 ergab sich der Säuregrad.

Da in vielen Molkereibetrieben die Reduktase-Probe als einfache und gute Schnellmethode zur allgemeinen Beurteilung der Milch Verwendung findet, wurde auch sie in die Untersuchungen einbezogen. Auf diese Weise sollten Beziehungen, falls solche zwischen der Anaerobenflora und der Reduktionszeit bestunden, festgestellt werden.

Schließlich wurde auch die Schleuderprobe nach Trommsdorff[2]) durchgeführt, um zu ermitteln, ob anaerobe Organismen bereits mikroskopisch nachweisbar sind. Es wurde dabei in der bekannten Weise verfahren, daß 10 ccm der gut durchmischten Milch in dem unten zu einer Kapillare verengten Trommsdorff-Röhrchen 5 Min. lang bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert wurden. Nach Entfernung der überstehenden Milchschicht wurde die Menge des Sedimentes an der angebrachten Graduierung volumetrisch bestimmt.

III. Untersuchungsergebnisse.

1. Die Anaerobenflora der Milchproben.

a) Beschreibung der Arten.

Bevor zur Erörterung des Anaerobengehalts der einzelnen Milcharten übergegangen wird, soll wegen der immer noch bestehenden Unklarheiten eine kurze Charakterisierung der Organismen, die bei den Untersuchungen isoliert werden konnten, vorausgeschickt werden.

[1]) Morres, Aus: Handb. d. Milchw. Bd. 1. Teil I. S. 326.
[2]) Trommsdorff und Rullmann, Arch. f. Hyg. Bd 59. 1906. S. 242.

Da es sich im großen und ganzen stets um die gleichen handelte, die aus den Proben gezüchtet wurden, so konnte eine Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse in Form einer Tabelle erfolgen.

Zur Sicherheit der Identifikation wurden die Stämme mit Originalstämmen verglichen, die zu dem Zwecke beschafft wurden.

Tabelle 2.

Lfd. Nr.	Datum	Milch-Probe	Bac. putr. verr	Bac. sacch.	Bac. tet.	Bac. amyl.	Bac. sphen.	Pect. amyl.
1	15. 10.	Mk. past.	+				+	
2	29. 10.	,, ,,	+					
3	3. 11.	,, roh	+	+		+		
3 a	3. 11.	,, past.	+	+				
4	7. 11.	,, ,,		+	+			+
5	7. 11.	,, ,,	+	+				
6	9. 11.	V. roh						
7	15. 11.	Mk. past.	+					
8	15. 11.	,, ,,	+	+				
9	29. 11.	,, ,,		+			+	
10	4. 12.	,, ,,	+	+				
11	11. 12.	,, ,,	+	+				
12	15. 12.	,, ,,						
13	7. 1.	,, ,,	+	+	+			
14	7. 1.	,, ,,		+		+		+
15	15. 1.	,, ,,	+	+				
16	21. 1.	,, roh	+	+	+			
16 a	21. 1.	,, past.	+	+	+			
17	29. 1.	,, ,,	+	+	+	+		
18	4. 2.	M. roh		+				
19	4. 2.	Mk. past.	+		+			
20	12. 2.	,, ,,	+	+				+
21	12. 2.	,, ,,		+			+	
22	19. 2.	,, ,,	+	+	+		+	
23	26. 2.	,, ,,	+			+		
24	18. 3.	,, ,,	+	+	+			
25	5. 4.	,, roh	+	+	+		+	
25 a	5. 4.	,, past.	+	+	+			
26	24. 4.	V. roh	+					
26 a	24. 4.	,, past.	+					
27	30. 4.	Mk. ,,	+	+	+	+		
28	13. 5.	,, ,,	+	+	+			+
29	22. 5.	V. roh						
29 a	22. 5.	,, past.						
30	28. 5.	Mk. ,,	+	+	+			+
31	1. 6.	,, ,,	+		+			
32	6. 6.	,, ,,		+		+	+	
33	14. 6.	,, roh	+	+	+			
33 a	14. 6.	,, past.	+	+	+			
34	24. 6.	,, ,,	+		+			
35	30. 6.	M. roh	+					
36	2. 7.	Mk. past.	+	+				
37	4. 7.	,, roh	+	+	+	+		
38	4. 7.	,, ,,	+	+				
39	4. 7.	,, ,,	+	+	+			
39 a	4. 7.	,, past.	+	+	+			
40	25. 9.	,, ,,	+					

Zeichenerklärung: Mk. = Marktmilch; M. = Markenmilch; V. = Vorzugsmilch.

b) Der Gehalt der untersuchten Milch an obligat anaeroben Organismen.

α) Die Verteilung der verschiedenen Arten.

In der Tab. 2 sind alle Milchproben laufend nach der Zeit ihrer Entnahme aufgeführt und es ist daraus im einzelnen ersichtlich, um welche Milchart (Vorzugs-, Marken- oder Marktmilch) es sich handelt.

Es erwiesen sich danach von insgesamt 47 Milchproben 43 (85,1%) mit anaeroben Keimen behaftet. Nur 2 der 35 Proben pasteurisierter Milch wurden frei von Anaerobiern gefunden. Bei diesen beiden Proben handelte es sich um eine Vorzugsmilch (Nr. 29 a), die schon in rohem Zustand keinen Anaerobier zeigte, und eine im Geschäft gekaufte Marktmilch (Nr. 12).

Am häufigsten fand sich der Bac. putrificus verrucosus, der nur aus insgesamt 10 Milchproben nicht erhalten wurde. Hierunter befanden sich 4 Proben Vorzugs- und Markenmilch; bei den restlichen 6 handelte es sich um pasteurisierte Marktmilch.

Die bereits erwähnten Angaben anderer Autoren über das häufige Auftreten dieses Organismus in Milch werden also vollauf bestätigt.

Neben diesem Hauptvertreter der proteolytischen Gruppe enthielt die Mehrzahl der Proben den Bac. saccharobutyricus, den stark kohlehydratvergärenden Anaerobier. Er wurde nicht weniger als 33 mal gezüchtet. Von den 14 Proben, in denen er nicht auftrat, entfiel die Hälfte auf Vorzugs- und Markenmilch, die restlichen 7 Proben waren pasteurisiert.

Beträchtlich seltener zeigte sich der Bac. tetanomorphus, der aus mehr als der Hälfte der Proben nicht zu isolieren war. In Vorzugs- und Markenmilch wurde er sogar nie angetroffen. Bemerkenswerterweise trat er, wie deutlich aus Tab. 2 ersichtlich, anfangs, etwa in der Zeit von Mitte Oktober 1934 bis Januar 1935, sehr selten in Erscheinung, während er später regelmäßiger beobachtet werden konnte. Gleichzeitig machte sich in dieser Zeit bei der Reinzüchtung eine deutlich gehemmte Entwicklung bemerkbar, die in sehr träger Versporung und schlechtem Wachstum auf der Platte zum Ausdruck kam.

In noch wesentlich geringerem Maße als der Bac. tetanomorphus konnten die 3 letztgenannten Organismen: Bac. amylobacter, Bac. sphenoides und Pectinobacter amylophilum aus Milch isoliert werden. Ihr Vorkommen beschränkte sich auch auf Marktmilch.

Bei einer Zusammenfassung der Resultate ergibt sich folgendes Bild:

Aus 47 Milchproben wurden erhalten:

Bac. putrificus verrucosus	37mal	= 78,7%	der Proben
Bac. saccharobutyricus	33mal	= 70,2%	„
Bac. tetanomorphus	20mal	= 42,5%	„
Bac. amylobacter	7mal	= 14,9%	„
Bac. sphenoides	6mal	= 12,7%	„
Pectinobacter amylophilum	5mal	= 10,6%	„

Im Hinblick auf die in der Literatur niedergelegten Ergebnisse könnte das starke Auftreten des Bac. saccharobutyricus überraschen, bei der starken Verbreitung dieses Organismus im Stalldünger mußte er jedoch auch in Milch in größerem Umfang erwartet werden.

Stellt man einen Vergleich mit den von Glathe[1]) an Stalldünger durchgeführten Untersuchungen an, so müssen in erster Linie die Frischmist-

[1]) Glathe, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1934. S. 99—100.

proben berücksichtigt werden. Scheidet man den aus Probstheida stammenden Dünger wegen der dort vorliegenden besonderen Fütterungsverhältnisse aus, so traten folgende Organismen auf:

Tabelle 3.

Frischmist des zu Kaltmist verarbeiteten Düngers		Frischmist des zu Edelmist verarbeiteten Düngers	
Organismen	Zahl je g Dünger	Organismen	Zahl je g Dünger
Bac. putr. verruc.	100 000	Bac. putr. verruc. . . .	100 000
Bac. amylobacter	1 000	Bac. amylobacter . . .	1 000
Bac. tetanomorph.	1 000	Bac. tetanomorph. . . .	1 000
Pect. amylophil.	100	Bac. saccharobut. . . .	100
		Pect. amylophil.	100

Die Stärke des Auftretens der einzelnen Organismen zeigt in diesen 3 Fällen eine gewisse Übereinstimmung, vornehmlich läßt das überragende Vorhandensein des Bac. putrificus verrucosus mit Sicherheit darauf schließen, daß der Mist eine der Hauptinfektionsquellen für die Milch darstellt. Mithin besteht auch die Angabe Weinzirls und Veldees[1]) völlig zu Recht, daß die Gegenwart dieses Bazillus in Milch ein Anzeichen für eine Fäkalverunreinigung ist.

Im allgemeinen war durch die Pasteurisierung keine Veränderung der Anaerobenflora eingetreten, wie ein Vergleich der zusammengehörigen unerhitzten und erhitzten „Milchhof-Marktmilch" zeigt. So enthielten die vor der Pasteurisierung entnommenen Proben die gleichen Arten wie danach. Ausnahmen machten nur Probe Nr. 3/3 a und 25/25 a, bei denen nach der Erhitzung je ein Anaerobier nicht mehr festgestellt werden konnte. Daraus geht hervor, daß die Organismen sich in vegetativer Form in den Proben befanden und durch die Erhitzung abgetötet wurden. Bemerkenswerterweise handelte es sich um Bac. amylobacter und Bac. sphenoides, also um Organismen, die zu den seltener vorkommenden gehörten.

Betrachtet man an Hand der Tabelle den Umfang der Anaeroben-Infektion der Milch hinsichtlich der Zahl der jeweils isolierten Arten, so muß gesagt werden, daß sich zwischen Sommer- und Wintermilch kein auffallender Unterschied ergab. Eine Übereinstimmung mit den Angaben von Kürsteiner, Barthel und Jochims, die bekanntlich die Sommermilch stärker mit Anaerobiern behaftet fanden als die Wintermilch, konnte demnach nicht festgestellt werden.

Durchschnittlich ließen sich aus jeder Milchprobe 2—3 Anaerobier züchten. Nur in 7 Fällen — es handelte sich lediglich um Marktmilch — betrug die Zahl 4 Arten je Probe.

Im Gegensatz hierzu zeigte sich die untersuchte Vorzugs- und Markenmilch auch hinsichtlich der Anaerobenflora sehr sauber. Von den 3 Proben rohe Vorzugsmilch enthielt eine (Nr. 26) anaerobe Sporenbildner, und zwar nur einen Organismus. Ebenso wiesen die beiden Markenmilchproben nur je einen Anaerobier auf. — Eine so geringe Infektion konnte dagegen bei der pasteurisierten Marktmilch nur in 2 (Nr. 7 und 40) von insgesamt 33 Proben (6%) festgestellt werden.

[1]) Weinzirl und Veldee, Amer. Journ. of publ. Health. Vol. 5. 1915. p. 862.

Tabelle 4.

Nr.	Art der Probe	Milch-Beimpfung						Sediment-Beimpfung						Weinzirl-Probe						
		Eier-fleisch		Leber-bouil-lon		Kar-toffel-brei		Eier-fleisch		Leber-bouil-lon		Kar-toffel-brei		Auf-trieb		Rohrchen				
		p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	p.	n. p.	po.	ne	a	b	c	d	e
1	Mk. p.	sp.						v.						+		v.				
2	,, ,,								v.		s.			+		s.				
3	,, r.		v.			s.			a.					+						
3a	,, p.				s.					v.				+						
4	M. ,,	t.				p.							s.	+		s.				
5	,, ,,	v.								s.				+						
6	V. r.	.													+					
7	Mk. p.							v.							+					
8	,, ,,	v.								s.		s.		+				s		
9	,, ,,									s.	sp.			+		s.				
10	,, ,,	v.				s.								+						
11	,, ,,	s.									v.			+						
12	,, ,,													+						
13	,, ,,							v. t.				s.		+		s.		t.		
14	,, ,,			s.		p.					a.			+						
15	,, ,,						s.	v.						+		v.				
16	,, r.	v.	t.										s.	+						s.
16a	,, p.						s.	v.				t.		+		t.				
17	,, ,,	t.								v.		s.	a.	+						
18	M. r.												s.	+		s.				
19	Mk. p.		v.					t.						+						
20	,, ,,						s.		v.			p.		+						
21	,, ,,							sp.		s.				+		sp.	s.			
22	,, ,,	v.			t.					sp.			s.	+						
23	,, ,,		v.	a.										+						
24	,, ,,	t.					s.	v.						+		s.				
25	,, ,,	v.								t.		s. sp.		+		v.				
25a	,, ,,	v.				s.			t.					+		s.				
26	V. r.								v.						+					
26a	,, p.		v.						v.						+					
27	Mk. p.				v.	s.		a.			t.			+					v.	
28	,, ,,	v.				s.		t.		p.				+		s.				
29	V. r.														+					
29a	,, p.														+					
30	Mk. p.	t.								v.		p. s.		+		s.				
31	,, ,,		v.								t.			+			v.			
32	,, ,,					s.			a. sp.						+	s.				
33	,, r.		s.							v.	t.			+						
33a	,, p.		v.	t.		s.								+						
34	,, ,,							t.						+						
35	M. r.							v.							+					
36	Mk. p.	v.		s.										+		s.				
37	,, r.	v.							a.	t.		s.		+						
38	,, ,,						s.	v.						+		s.v.				
39	,, ,,	v.								t.		s.		+						
39a	,, p.			v.		s.		t.						+		s.				
40	,, ,,		v.											+						

Bevor nun von dem mengenmäßigen Auftreten der anaeroben Organismen die Rede sein soll, scheint an dieser Stelle ein kurzes Eingehen auf das Methodische angezeigt; hängt doch gerade bei der Züchtung von Anaerobiern das Resultat der Untersuchungen von der richtigen Wahl der

Methoden in hohem Maße ab. Der folgenden Besprechung soll Tab. 4 dienen, aus der ersichtlich ist, mit Hilfe welches Verfahrens die einzelnen Stämme isoliert wurden.

Wie nachstehende Tab. 5, in der die Ergebnisse nochmals zahlenmäßig zusammengefaßt sind, zeigt, war die Zahl der aus dem Sediment erhaltenen Stämme größer als die der durch Verimpfung von Milch isolierten.

Tabelle 5.

Arten	Gesamtzahl der Stämme	aus Milch		aus Sediment	
		Anzahl	%	Anzahl	%
Bac. putr. verruc. . . .	37	20	54,1	17	45,9
Bac. saccharobut. . . .	33	18	54,6	15	45,4
Bac. tetanomorph. . . .	20	7	35,0	13	65,0
Bac. amylobacter	7	1	14,3	6	85,7
Bac. sphenoides	6	1	16,7	5	83,3
Pect. amylophilum . . .	5	2	30,0	3	60,0

Das konnte nicht anders erwartet werden, da die bei der Sedimentmethode zur Untersuchung gelangende Menge Ausgangsmaterial 17mal so groß war wie die verimpfte Milchmenge. Es wurden insgesamt isoliert:

Aus Sediment	59 Stämme	=	54,6%
Aus Milch	49 ,,	=	45,4%
Insgesamt:	108 Stämme	=	100,0%.

Berücksichtigt man die erheblichen Unterschiede im Quantum des Impfmaterials, so ist die Mehrausbeute von 10 Stämmen bei Sedimentanwendung sogar erstaunlich gering. Bemerkenswerterweise wurde sie lediglich durch die 4 Organismen: Bac. tetanomorphus, Bac. amylobacter, Bac. sphenoides und Pectinobacter amylophilum hervorgerufen, die aus Milch erheblich seltener isoliert werden konnten als aus Sediment. Das tritt am eindeutigsten bei Bac. amylobacter und Bac. sphenoides zutage, von denen nur rund 15% der Stämme aus Milch gezüchtet wurden.

Diese Befunde beweisen das auffällig seltene Vorkommen der 3 letztgenannten Anaerobier insofern, als sie bei Verwendung von 1 ccm Milch nur vereinzelt, dagegen mehrmals bei Anwendung einer größeren Menge Ausgangsmaterials festgestellt werden konnten.

Die Folgerung aber, die aus diesen Ergebnissen für die Methodik gezogen werden kann, ist die, daß sich die Verwendung von Sediment als Impfmaterial neben Milch in all den Fällen als notwendig erweist, wo eine eingehende Erforschung der Anaerobenflora geplant ist, d. h. wo es sich auch um eine Erfassung selten auftretender Arten handelt.

Was die Beobachtungen über die Zweckmäßigkeit der Verwendung mehrerer flüssiger Nährböden nebeneinander betrifft, so konnten die Erfahrungen von Glathe [1]) in jeder Weise bestätigt werden. Abgesehen davon, daß die Isolierung der Organismen wesentlich erleichtert wurde, war auch die Ausbeute an Stämmen eine höhere, als wenn lediglich ein Nährboden zur Anwendung gekommen wäre.

Bezeichnend für die Überlegenheit der 3-Nährböden-Methode gegenüber dem noch heute, besonders in der medizinischen Bakteriologie, üblichen Ver-

[1]) Glathe, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1934. S. 80.

fahren der alleinigen Benutzung von Leberbouillon, ist die Tatsache, daß bei vorliegenden Untersuchungen ca. 75% der Stämme aus Eierfleisch und Kartoffelbrei isoliert wurden und nur 25% aus Leberbouillon.

Interessant ist die aus folgender Gegenüberstellung ersichtliche Übereinstimmung der eigenen Befunde mit denen von Glathe[1]):

Tabelle 6.

Nährboden	Dührsen		Glathe	
	Zahl	%	Zahl	%
Eierfleisch	49	45,3	77	46,1
Leberbouillon	28	25,9	27	16,2
Kartoffelbrei	31	28,8	57	34,1
Zuckerlösung	—	—	6	3,6
Insgesamt:	108	100,0	167	100,0

Es geht daraus eindeutig hervor, daß besonders Eierfleisch und Kartoffelbrei ausgezeichnete Nährböden für anaerobe Sporenbildner darstellen.

Um zu zeigen, welche Nährböden den einzelnen Arten am meisten zugesagt hatten, erfolgte in Tab. 7 eine zahlenmäßige Aufstellung der Stämme jedes Organismus, die aus den betreffenden Nährböden isoliert wurden:

Tabelle 7.

Arten	Eierfleisch				Leberbouillon				Kartoffelbrei			
	p.	n. p.	zus.	%	p.	n. p.	zus.	%	p.	n. p.	zus.	%
Bac. putr. verruc.	19	10	29	78,4	5	3	8	21,6	0	0	0	0
Bac. saccharobut.	1	1	2	6,1	5	2	7	21,2	15	9	24	72,7
Bac. tetanomorph.	9	2	11	55,0	4	4	8	40,0	1	0	1	5,0
Bac. amylobacter	1	3	4	57,1	1	1	2	28,6	0	1	1	14,4
Bac. sphenoides	2	1	3	50,0	1	1	2	33,3	1	0	1	16,7
Pect. amylophil.	0	0	0	0,0	1	0	1	20,0	4	0	4	80,0
Insgesamt:	32	17	49	45,3	17	11	28	25,9	21	10	31	28,8

Während Bac. putrificus verrucosus als typischer Eiweißzersetzer vornehmlich aus Eierfleisch gezüchtet wurde, bevorzugten Bac. saccharobutyricus und Pectinobacter amylophilum Kartoffelbrei. Bei Bac. tetanomorphus, Bac. amylobacter und Bac. sphenoides ist, z. T. bedingt durch die verhältnismäßig geringe Anzahl der Stämme, keine so deutliche Neigung für einen bestimmten Nährboden zu erkennen. Im allgemeinen war aber auch hier Eierfleisch den anderen Nährböden überlegen.

Aus diesen Tatsachen ergibt sich die Notwendigkeit, bei genauen Untersuchungen der Anaerobenflora neben dem Standardnährboden Leberbouillon stets einige leistungsfähige Selektivnährböden zu verwenden.

Wie weiterhin aus Tab. 7 zu entnehmen ist, hat sich eine Pasteurisierung der beimpften Anreicherungsröhrchen vor der Bebrütung gut bewährt. So lieferten die Röhrchen insgesamt folgende Zahl von Stämmen:

[1]) Glathe, l. c.

Pasteurisierte Rohrchen	70 Stamme	= 64,8%
Unerhitzte Rohrchen	38 ,,	= 35,2%
Insgesamt:	108 Stamme	= 100,0%.

Die erhitzten Kulturen entwickelten sich im allgemeinen rascher als die unerhitzten und zeichneten sich besonders durch fruhere Sporenbildung aus.

Was die Weinzirl-Probe als Methode des Nachweises von Anaerobiern betrifft, so ist nach Tab. 4 hinsichtlich der Ergebnisse im großen und ganzen eine Übereinstimmung mit den Kulturverfahren zu verzeichnen; anaerobe Sporenbildner konnten also auch mit dieser festgestellt werden. In einigen Fällen waren jedoch Abweichungen zu beobachten. So verlief die Weinzirl-Probe bei 5 Milchproben negativ, obgleich kulturell einwandfrei die Anwesenheit anaerober Sporenbildner nachgewiesen wurde. Anderseits rief eine Milch, die als anaerobenfrei befunden wurde, deutlich Auftrieb in 3 Rohrchen hervor. Bemerkenswerterweise handelte es sich bei den 5 negativen Milchproben mit Ausnahme von Nr. 32 um solche mit besonders geringer Anaeroben-Infektion. Es wurde aus allen nur Bac. putrificus verrucosus gezüchtet. Da dieser, wie sich bei Untersuchungen mit reinen Stämmen, von denen später zu sprechen ist, zeigte, schwachen Auftrieb im Röhrchen verursacht, ist das Ausfallen der Proben bei nur geringer Anwesenheit von Sporen verständlich. Nicht aber einzusehen ist das gleiche bei Nr. 32, wo neben dem Bac. amylobacter und Bac. sphenoides der stark gasbildende Bac. saccharobutyricus vorhanden war.

Zum Beweis, daß der Auftrieb wirklich durch die Anwesenheit anaerober Sporenbildner verursacht worden war, und um zu prüfen, ob die gleichen Anaerobier, die bei den Kulturverfahren ermittelt wurden, auch aus Weinzirl-Röhrchen erhalten werden konnten, wurden die Röhrchen nach Beendigung der Bebrütung einer mikroskopischen Betrachtung und einer Untersuchung nach den bekannten Züchtungsmethoden unterworfen.

Unter dem Mikroskop ließen sich in der Regel nur einzelne versporte Individuen erkennen, die als Bac. saccharobutyricus anzusprechen waren. Das stimmte auch annähernd mit den kulturellen Befunden überein, wonach in der Hauptsache dieser Organismus isoliert wurde.

Bac. putrificus verrucosus ließ sich trotz seiner Anwesenheit in fast allen Proben nur aus 6 Röhrchen züchten, während die übrigen Anaerobier noch seltener erhalten werden konnten.

Dieser lückenhafte Befund läßt vermuten, daß die anaeroben Sporenbildner durch die in den Röhrchen gebildete Säure in ihrer Entwicklung stark gehemmt werden und bereits nach wenigen Tagen ihre Lebenstätigkeit einstellen.

Demgegenüber muß die Angabe, daß die anaeroben Sporenbildner sehr säureresistent sein sollen, überraschen. Csiscar[1]) stellte fest, daß

bei Bac. putrificus verrucosus erst bei p_H 4,83
„ Bac. saccharobutyricus „ „ p_H 4,88

keine Keimung der Sporen mehr erfolgte.

Ebenso fand Dorner[2]), daß Bac. saccharobutyricus sich bei p_H 5,7 noch völlig normal entwickelte und Säure erheblich besser ver-

[1]) Csiscar, Milchw. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 201.
[2]) Dorner, Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 38. 1924. S. 168.

tragen konnte als Bac. putrificus verrucosus, was letzteres vorliegende Untersuchungen durchaus bestätigten.

Daß die geringe Ausbeute zum uberwiegenden Teil eine Folge des schädigenden Einflusses der sauren Reaktion des Substrates war, geht allein daraus einwandfrei hervor, daß aus den mit steriler Kreide gepufferten Röhrchen 3mal soviel Stämme isoliert wurden, als aus allen anderen nicht-neutralisierten zusammen.

Nach Weinzirl und Veldee[1]) soll die Weinzirl-Probe nicht allein durch Auftrieb das Vorhandensein anaerober Sporenbildner mit Sicherheit anzeigen, sondern es soll auch moglich sein, durch Beobachtung der Auftriebsintensität und -geschwindigkeit und auf Grund der sichtbaren Veränderungen des Substrates gewisse Rückschlusse auf die Zusammensetzung der Anaerobenflora zu ziehen. So sollen beispielsweise vorwiegend kohlehydratvergärende Arten eine langsame Gerinnung der Milch und heftigen Auftrieb bewirken, während bei Eiweißzersetzern Gerinnung mit anschließender Peptonisierung und weniger starke Gasbildung zu beobachten sei.

Um diese Angaben nachzuprufen und festzustellen, wie sich die Organismen im einzelnen bei der Weinzirl-Probe verhalten, wurden wiederholt junge, frisch versporte Reinkulturen der 6 isolierten Anaerobier in je 10 ccm sterilisierte Milch eingeimpft und mit dieser die Weinzirl-Probe in bekannter Weise ausgefuhrt. Dabei konnten folgende Beobachtungen gemacht werden (Tabelle 8).

Bei einem Vergleich dieser Ergebnisse zeigt sich, daß bei Verwendung reiner Stämme zwischen Bac. putrificus verrucosus und Bac. saccharobutyricus sichtbare Unterschiede bestehen, was für die anderen Organismen aber nur in beschränktem Maße zutrifft. Mithin würde das die Annahme bestätigen, daß der Weinzirl-Probe auch ein gewisser diagnostischer Wert zukommt. Normalerweise enthält jedoch die Milch nur selten eine Anaerobier-Art. Vielmehr beweist gerade das häufige Nebeneinanderauftreten der beiden so verschiedene Veränderungen hervorrufenden Organismen Bac. putrificus verrucosus und Bac. saccharobutyricus, daß die Anaerobenflora der Milch in der Regel recht uneinheitlich ist. Mithin wird durch das völlige Ineinandergreifen der Lebensvorgänge der verschiedenen Organismen eine Diagnose unmöglich.

Das Ergebnis der Untersuchungen über die Weinzirl-Probe läßt sich etwa dahin zusammenfassen, daß sie ein fur den Molkereibetrieb hinreichend genaues Verfahren darstellt, eine stärkere Infektion der Milch mit anaeroben Keimen nachzuweisen, daß ihre Durchfuhrung aber in den seltensten Fällen gleichzeitig einen Anhalt für die Art der anaeroben Verunreinigung bietet. Für einen exakten Anaerobier-Nachweis, bei dem es auch auf Erfassung der nur in geringen Mengen auftretenden Keime ankommt, ist sie jedoch ungeeignet.

β) Die Menge der vorhandenen Keime.

Für die quantitativen Untersuchungen diente in der Hauptsache Marktmilch; zum Vergleich wurden eine Vorzugsmilch und eine Markenmilch herangezogen. Da insbesondere der Einfluß der Erhitzung auf die Zahl der anaeroben Keime beobachtet werden sollte, lag es nahe, die 10 im Milchhof am Pasteur teils roh, teils nach vorausgegangener Erhitzung entnommenen

[1]) Weinzirl and Veldee, Amer. Journ. of Health. Vol. 5. 1915. p. 858.

Tabelle 8.

Organismus	Zeit	Beobachtungen
Bac. putr. verruc.	nach 48 Std.	Milch koaguliert, einige Gasblasen, 1 cm hohes, trübes Serum. Koagulat locker, leicht gelblich. Kein Auftrieb.
	nach 5 Tagen	3 cm Auftrieb. Koagulat auf die Hälfte eingeschrumpft. Überstehendes Serum gelblich trübe. Geruch stark putrid.
	nach 8 Tagen	Stärkerer Auftrieb. Koagulat bis auf einige Flöckchen verdaut. Serum trübe. Reaktion alkalisch (p_H 11,6).
Bac. saccharobut.	nach 48 Std.	Starke Gasentwicklung, gewöhnlich bis zum Wattepfropf aufgetrieben. Milch unverändert, oft beginnende Gerinnung.
	nach 5 Tagen	Milch koaguliert. Serum fast klar. Koagulat ziemlich kompakt. Leichte Gasentwicklung. Geruch nach Buttersäure (p_H 5,8).
	nach 8 Tagen	Dasselbe, keine Gasbildung mehr.
Bac. tetanomorph.	nach 48 Std.	Keine sichtbare Veränderung der Milch. Paraffinpfropf wenig gehoben.
	nach 5 Tagen	Milch unverändert. 1 ccm Auftrieb.
	nach 8 Tagen	Milch z. T. koaguliert. Auftrieb unverändert.
Bac. amylobacter	nach 48 Std.	Milch gewöhnlich koaguliert. Geringe Gasentwicklung, 3 cm Auftrieb. Koagulat etwas zusammengeschrumpft. Serum trübe. Schwachsaure Reaktion.
	nach 5 Tagen	Koagulat beträchtlich eingesunken, locker. Kaum noch Gasbildung. Auftrieb bis zur Hälfte des Röhrchens.
	nach 8 Tagen	Koagulat noch weiter verringert. Auftrieb unverändert. Serum saure Reaktion (p_H 6,6).
Bac. sphenoides .	nach 48 Std.	Milch unverändert. Kein Auftrieb.
	nach 5 Tagen	Milch koaguliert. Auftrieb etwa bis zur Hälfte des Röhrchens. Schwache Gasbildung. Serum trübe (p_H 6,0).
	nach 8 Tagen	Koagulat auf die Hälfte zusammengeschrumpft. Auftrieb bis drei Viertel des Röhrchens.
Pect. amyloph. .	nach 48 Std.	Milch koaguliert. Auftrieb bis zur Hälfte des Röhrchens. Starke Gasentwicklung. Auf der Oberfläche Schaum.
	nach 5 Tagen	Koagulat stark zerklüftet, mit Gasblasen durchsetzt. Auftrieb bis drei Viertel des Röhrchens. Serum fast klar (p_H 5,9).
	nach 8 Tagen	Auftrieb unverändert. Koagulat stark eingeschrumpft. Kein Gas. Geruch eigentümlich.

Proben der mengenmäßigen Prüfung zu unterziehen. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tab. 9 zusammengestellt.

Der Versuch, mit Hilfe der Weinzirl-Probe durch entsprechende Verdünnung mit sterilem Wasser die Menge der anaeroben Sporenbildner zu erfassen, führte, wie deutlich ersehen werden kann, zu keinem Erfolg. Danach hätte bei Marktmilch etwa 1 Keim je Kubikzentimeter angenommen werden müssen, was keineswegs den Tatsachen entsprach, wie durch die anderen Methoden bewiesen wird.

Tabelle 9.

Nr.	Art der Probe	Weinzirl-Probe			Milchverdünnung				Sedimentverdünnung				
		10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
3	Mk. roh	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0
3a	„ past.	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0
7	„ „	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0
16	„ roh	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0
16a	„ past.	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	0	0
17	„ „	+	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0	0
25	„ roh	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0
25a	„ past.	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0
26	V. roh	0	0	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0
26a	„ past.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
28	Mk. past.	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	0
33	„ roh	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0
33a	„ past.	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0
35	M. roh	0	0	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0
39	Mk. roh	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0
39a	„ past.	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0

Zeichenerklärung: V. = Vorzugsmilch; M. = Markenmilch; Mk. = Marktmilch; + = Wachstum; 0 = kein Wachstum.

Bei der Milchverdünnungsmethode zeigten 10 von 15 anaerobenhaltigen Milchproben (67%) noch Wachstum in der zweiten Verdünnung (10^{-2}). Das besagt, daß mindestens 1 Keim in 0,01 ccm oder 100 Keime in 1 ccm vorhanden gewesen sind.

Geringer war die Zahl anaerober Sporenbildner in Vorzugs- und Markenmilch. Diese wiesen nur im direkt mit 1 ccm Milch beimpften Röhrchen Wachstum auf; danach muß 1 Keim je Kubikzentimeter angenommen werden.

Vergleicht man die Keimzahlen der pasteurisierten Milch mit denen der zugehörigen Rohmilch, so kann festgestellt werden, daß kein Unterschied besteht, d. h. daß in beiden Milchproben stets bis zur gleichen Verdünnungsstufe Wachstum in den Anreicherungsröhrchen erfolgte.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, beschränkte sich aber die Übereinstimmung im Keimgehalt zwischen roher und pasteurisierter Milch vornehmlich auf die Milchverdünnungsmethode. Bei Verwendung von Sediment war häufig (in 4 von 6 Fällen) insofern eine Abweichung zu beobachten, als die unerhitzte Milch mehr Anaerobier enthielt als die pasteurisierte. Daraus würde sich die Schlußfolgerung ergeben, daß die Pasteurisierung tatsächlich keimvermindernd auf die Anaerobenflora gewirkt hat. Durch die Ergebnisse der Milchverdünnungsmethode wird diese Tatsache jedoch nicht bestätigt und es ist ferner hervorzuheben, daß der Sedimentmethode eine größere Genauigkeit abgesprochen werden muß.

Will man die beiden Verfahren bezüglich ihrer Wirksamkeit überhaupt vergleichen, so ist dabei wohl zu beachten, daß sich die einzelnen Verdünnungsstufen nicht ohne weiteres entsprechen, weil von verschiedenen Mengen Impfmaterials ausgegangen wurde.

Ergab sich also, was häufig der Fall war, zwischen Sediment- und Milchverdünnungsmethode wirklich Übereinstimmung, oder war bei Sediment sogar in der nächst höheren Verdünnung Wachstum erfolgt (Probe Nr. 3 u. 25), so zeigte dennoch die Milchverdünnungsmethode höhere Keimzahlen an, wie die Aufstellung in Tab. 10 beweist.

Tabelle 10.

Nr.	Weinzirl-Probe K/ccm	Milchverdunnungs-Methode K/ccm	Sedimentverdunnungs-Methode K/ccm
3	0,1	100	60,0
3 a	0,1	100	6,0
7	—	—	0,6
16	1,0	100	6,0
16 a	0,1	100	0,6
17	0,1	10	6,0
25	0,1	100	60,0
25 a	1,0	100	6,0
26	—	1	0,6
26 a	—	1	—
28	0,1	10	0,6
33	0,1	100	6,0
33 a	0,1	100	6,0
35	—	1	0,6
39	1,0	100	6,0
39 a	0,1	100	6,0
Zusammen	3,9	1023	171,0

Errechnet man die durchschnittliche Keimzahl je Probe, die mit Hilfe der 3 gehandhabten Verfahren erhalten wurde, so ergeben sich:

bei der Weinzirl-Probe . . . . 0,24 Keime je ccm
„ „ Sedimentverdunnungs-Methode . . . . . 10,7 „ „ „
„ „ Milchverdunnungs-Methode . . . . 64,0 „ „ „

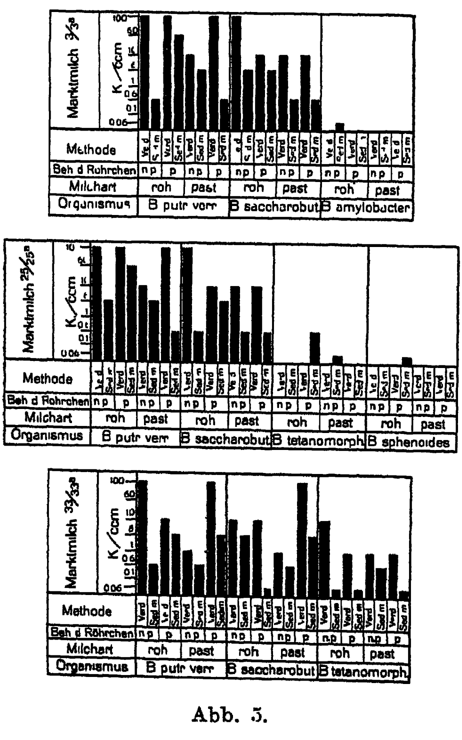


Abb. 5.

Die Wertigkeit der Methoden verhält sich also wie

1 : 44 : 262.

Daß die Sedimentmethode der Milchverdünnungsmethode an Exaktheit beträchtlich nachsteht, kann nicht überraschen, da das Zentrifugat nicht alle Bakterien der Milch enthält, ein Teil der Mikroorganismen sich vielmehr beim Ausschleudern im Rahm ansammelt.

Über den Grad des Auftretens der einzelnen Arten in den Milchproben gibt Abb. 5 Auskunft, in der zu diesem Zwecke 3 besonders anaerobenhaltige Marktmilchproben der Tab. 9 zusammengestellt wurden.

Ganz allgemein zeigten die pasteurisierten Kulturröhrchen mit einigen Ausnahmen in höheren Verdünnungen Wachstum als die unerhitzten; die Zweckmäßigkeit

der vor der Bebrütung stattfindenden Erhitzung kommt also auch hier wieder zum Ausdruck.

Bac. putrificus verrucosus, der aus allen 3 Proben isoliert wurde, trat in roher und erhitzter Milch bis zur Verdünnung 10^{-2} auf, es mußten also mindestens 100 Organismen dieser Art vorhanden sein. Ähnlich verhielt es sich bei Bac. saccharobutyricus. Eigentümlicherweise konnte er 2mal bei pasteurisierter Milch (Nr. 3 a und 25 a) nicht mehr aus der gleichhohen Verdünnung wie bei der Rohmilch gezüchtet werden. Auch von Bac. saccharobutyricus wären also etwa 100 Keime je Kubikzentimeter Milch anzunehmen.

Bei Bac. tetanomorphus, den 2 der Milchproben in ihrer Anaerobenflora aufwiesen, konnte in einem Falle bei der Milchverdünnungsmethode Wachstum bis 10^{-1} festgestellt werden. Gewöhnlich trat der Organismus nur in unverdünnten Röhrchen auf. In Milch Nr. 25/25 a ließ er sich lediglich durch Sedimentbeimpfung nachweisen (bis 10^{-1}).

Ähnliche Beobachtungen wurden bei Bac. amylobacter und Bac. sphenoides gemacht, die sich aber vom Bac. tetanomorphus insofern noch mengenmäßig unterschieden, als sie nur aus der Sedimentserie 10^0 gezüchtet wurden. Dabei ist bemerkenswert, daß sie in pasteurisierter Milch nicht auftraten.

Trotz letzterer Erscheinung muß nach den obigen Ergebnissen doch angenommen werden, daß eine Abtötung vegetativer Formen während der Pasteurisierung nur in seltenen Fällen eintreten dürfte.

Wie die Betrachtungen zeigen, ist die Sedimentmethode trotz der größeren Ungenauigkeit für quantitative Untersuchungen keineswegs wertlos; sie ist in den Fällen angebracht, wo es sich um Ermittlung sehr kleiner Mengen handelt und wo infolgedessen die Milchverdünnungsmethode nicht ausreicht. Insofern stellt sie — und damit ergibt sich das gleiche wie für die qualitativen Untersuchungen — eine zweckmäßige Ergänzung der Milchverdünnungsmethode dar.

Bei einer Gegenüberstellung der für die einzelnen Organismen ermittelten Keimmengen und der Zahl der isolierten Stämme als Gradmesser ihres Auftretens, ergibt sich, wie aus folgendem ersichtlich, eine deutliche Parallelität.

Tabelle 11.

Organismus	Zahl der Keime	Zahl der Stämme
Bac. putr. verruc.	100 je 1 ccm	37
Bac. saccharobut.	10—100 „ 1 „	33
Bac. tetanomorph.	1—10 „ 1 „	20
Bac. amylobacter	1 „ 17 „	7
Bac. sphenoides	1 „ 17 „	6

Obgleich die wenigen Beispiele keine Verallgemeinerung gestatten, lassen diese Tatsachen aber vermuten, daß zwischen der Häufigkeit, in der die einzelnen Anaerobier in Milch anzutreffen sind, und ihrem zahlenmäßigen Auftreten gewisse Beziehungen bestehen.

Faßt man die Ergebnisse der quantitativen Untersuchungen kurz zusammen, so kann gesagt werden: 1. daß in 1 ccm Marktmilch durchschnittlich 100 anaerobe Keime nachgewiesen wurden, während Vorzugs- und Markenmilch, soweit überhaupt mit Anaerobiern behaftet, nur Mengen von ca.

Tabelle 12.

Nr.	Datum	Art der Probe	Herkunft	Temperatur °C	Red.-Zeit Std.	Säuregrad nach S. H.	Sediment ‰
1	2	3	4	5	6	7	8
1	15. 10.	Mk. past.	Geschäft	10	10	6,8	0,2
2	29. 10.	„ „	„	10	9	6,9	0,2
3	3. 11.	„ roh	Milchhof	9	3	7,2	0,3
3 a	3. 11.	„ past.	„	11	9	7,2	0,2
4	7. 11.	„ „	Geschäft	10	7	6,4	0,25
5	7. 11.	„ „	„	14	6	7,0	0,2
6	9. 11.	V. roh	Rassestall	5	9	6,5	0,2
7	15. 11.	Mk. past.	Geschäft	10	9	6,9	0,2
8	15. 11.	„ „	Milchwagen	15	7	6,9	0,2
9	29. 11.	„ „	Geschäft	12	9½	7,0	0,1
10	4. 12.	„ „	„	10	10	6,8	0,15
11	11. 12.	„ „	„	10	9	7,4	0,2
12	15. 12.	„ „	„ Alu.	11	10	6,4	0,1
13	7. 1.	„ „	„	7	10	7,0	0,2
14	7. 1.	„ „	„	10	8	6,5	0,15
15	15. 1.	„ „	„ Alu.	6	9½	6,7	0,25
16	21. 1.	„ roh	Milchhof	10	4	7,3	0,1
16 a	21. 1.	„ past.	„	13	9½	7,3	0,1
17	29. 1.	„ „	Geschäft	6	10	6,5	0,1
18	4. 2.	M. roh	„	10	5¾	6,9	0,2
19	4. 2.	Mk. past.	„	10	9	7,2	0,1
20	12. 2.	„ „	„	8	9¼	6,5	0,1
21	12. 2.	„ „	„	10	8¼	6,9	0,4
22	19. 2.	„ „	„	10	9	6,6	0,1
23	26. 2.	„ „	Milchwagen	7	10½	6,3	0,1
24	18. 3.	„ „	Geschäft	10	10	6,8	0,1
25	5. 4.	„ roh	Milchhof	11	3½	7,5	0,2
25 a	5. 4.	„ past.	„	12	8	7,5	0,15
26	24. 4.	V. roh	Rassestall	12	8	6,4	0,1
26 a	24. 4.	„ past.	„	13	15	6,4	0,1
27	30. 4.	Mk. „	Geschäft	12	7½	6,7	0,2
28	13. 5.	„ „	„	13	6½	6,9	0,2
29	22. 5.	V. roh	Rassestall	12	9¼	6,7	0,1
29 a	22. 5.	„ past.	„	12	23	6,7	0,1
30	28. 5.	Mk. past.	Geschäft	13	6	7,1	0,35
31	1. 6.	„ „	„	12	6	7,6	0,1
32	6. 6.	„ „	„	10	9	6,8	0,2
33	14. 6.	„ roh	Milchhof	18	2¼	7,4	0,1
33 a	14. 6.	„ past.	„	13	5½	7,4	0,15
34	24. 6.	„ „	Geschäft Alu.	17	5½	6,6	0,1
35	30. 6.	M. roh	„	15	5¼	6,3	0,1
36	2. 7.	Mk. past.	„	15	6	6,5	0,2
37	4. 7.	„ roh	Milchhof	17	3½	7,2	0,2
38	4. 7.	„ „	„	18	2¼	7,5	0,2
39	4. 7.	„ „	„	18	3½	7,2	0,2
39 a	4. 7.	„ past.	„	13	7	7,2	0,2
40	25. 9.	„ „	Geschäft	12	8	6,2	0,2

Zeichenerklärung: Mk. = Marktmilch;

1—10 Keimen je Kubikzentimeter enthielten; wesentliche Unterschiede zwischen roher und erhitzter Milch bestanden nicht; 2. daß die maximalen Keimmengen fast ausschließlich durch die beiden Arten: Bac. putrificus verrucosus und Bac. saccharobutyricus hervorgerufen wurden, was mit ihrem häufigen Auftreten in Milch im Einklang steht.

Tabelle 12.

Aerobe Ges.-Keimzahl je ccm	Wirk.-Grad der Past. %	Fak. anaerob. Ges.-Keimzahl je ccm	Coli-Organismen je ccm			
			McConkey	Platte	Säuerung	in % der Ges.-Keimzahl
9	10	11	12	13	14	15
50 000		60 000	100	500	500	0,82
97 000		89 000	50	900	100	0,93
1 790 000	97,46	800 000	10 000	25 000	50 000	1,4
45 500		36 000	1 000	1 000	5 000	2,2
16 500		10 500	5	180	50	1,1
218 000		55 000	500	17 000	10 000	7,7
35 000		31 000	1	20	10	0,06
20 000		30 000	500	500	500	1,7
79 000		85 000	50	70	50	0,08
92 000		75 000	50	1 000	500	1,1
69 000		70 000	5	40	50	0,06
75 000		86 000	1	0	10	0,0
67 000		65 000	50	50	100	0,075
150 000		127 000	50	360	500	0,24
57 000		45 000	50	100	100	0,18
35 000		33 500	1	30	500	0,086
2 340 000	98,46	522 000	10 000	17 000	50 000	0,73
36 000		24 000	1 000	1 000	1 000	2,8
35 000		42 000	1	20	10	0,048
195 000		160 000	100	600	500	0,31
49 000		41 000	50	400	500	0,82
55 000		37 000	50	230	500	0,42
8 200		6 000	1	10	5	0,12
90 000		105 000	10	190	100	0,18
62 000		55 000	1	400	500	0,65
125 000		120 000	10	145	100	0,12
600 000	94,5	580 000	10 000	4 000	10 000	0,67
33 000		22 000	½	0	1 000	0,0
28 000	99,29	15 000	½	10	50	0,036
200		30	0	0	0	0,0
55 000		21 000	50	120	100	0,22
138 000		110 000	500	1 050	5 000	0,76
52 000	86,16	48 000	0	5	500	0,01
7 200		4 100	0	0	0	0,0
32 000		25 000	10	800	1 000	2,5
29 000		40 000	10	300	100	0,75
52 000		49 000	50	150	100	0,3
3 000 000	98,03	2 400 000	10 000	10 500	100 000	0,35
59 000		65 000	5 000	5 000	5 000	7,7
128 000		79 000	500	400	1 000	0,31
230 000		54 000	5 000	5 900	50 000	2,6
284 000		146 000	500	1 000	5 000	0,35
3 900 000		2 600 000	10 000	32 900	50 000	0,84
8 690 000		2 930 000	10 000	19 000	100 000	0,22
4 600 000	98,12	2 790 000	10 000	20 200	50 000	0,44
86 000		81 000	5 000	6 400	10 000	7,4
65 000		24 000	500	900	1 000	1,4

M. = Markenmilch; V. = Vorzugsmilch.

Die Resultate der vorliegenden Untersuchungen, bei denen Anaerobier aus gewöhnlicher Marktmilch fast regelmäßig noch aus 0,01 ccm Milch isoliert werden konnten, weichen demnach erheblich von den in der Literatur gemachten Angaben über die Mengen anaerober Sporenbildner in Milch ab.

2. Die allgemeine hygienische Beschaffenheit der Milch.

Die Ergebnisse der allgemeinen Prüfungen sind in Tab. 12 zusammengefaßt.

Beachtet man die in allen Fällen sehr niedrigen, zwischen 6,2 und 7,6 S. H. schwankenden Werte für den Säuregrad, so muß gesagt werden, daß die untersuchte Milch durchweg als einwandfrei frisch zu bezeichnen war. Auch die Keimzahlen berechtigen zu derselben Schlußfolgerung. So betrug die durchschnittliche Keimmenge bei den 33 Proben erhitzter Marktmilch 75 500 Keime je Kubikzentimeter, wobei im Maximum 284 000 Keime, im Minimum 8200 Keime je Kubikzentimeter festgestellt wurden. Nimmt man als Höchstgrenze für pasteurisierte Milch 100 000 Keime je Kubikzentimeter an, wie es Klimmer, Haupt und Borchers[1]) in Anlehnung an das englische Milchgesetz[2]) vorgeschlagen haben, so lagen 27 Milchproben (82 %) unterhalb dieser Grenze, hatten somit auch den englischen Anforderungen genügt, und nur 18 % enthielten mehr als 100 000 Keime. Bezüglich der geringen Keimzahlen unterschieden sie sich also nicht erheblich von der rohen Vorzugs- und Markenmilch. Im Gegenteil lagen die Keimzahlen der Markenmilch höher als der Durchschnitt der pasteurisierten Marktmilchproben.

Die Vorzugsmilch wies im Durchschnitt 38 330 Keime je Kubikzentimeter auf.

Von diesen sehr niedrigen Keimzahlen wichen die der rohen Marktmilch stark ab. So konnten bei 7 untersuchten Proben im Maximum 8 690 000 Keime, im Minimum 600 000 und im Mittel 3 560 000 Keime je Kubikzentimeter gezählt werden. Letzteres entspricht etwa dem Durchschnitt der von Löhnis[3]) vor Jahren an Hand zahlreicher Proben für Leipziger Marktmilch ermittelten Keimzahlen.

Vergleicht man die hohen Keimzahlen der Rohmilch mit denen der zugehörigen pasteurisierten Proben und drückt den Wirkungsgrad der Erhitzung durch nachstehende Formel

$$x = \frac{(\text{Keimzahl der Rohmilch} - \text{Keimzahl der past. Milch}) \cdot 100}{\text{Keimzahl der Rohmilch}} \%$$

aus, so ergibt sich im Mittel eine Keimverminderung von rund 98 %. Die entsprechenden Werte wurden in die Tab. 12, Spalte 10 eingesetzt.

Wie schon für die anaeroben Sporenbildner festgestellt wurde, bestand auch zwischen Gesamtkeimzahl und Jahreszeit, d. h. der Tagestemperatur, bei der pasteurisierten Milch keine Beziehung. So machte sich also zwischen Sommer- und Wintermilch kein Unterschied geltend. Das ist erklärlich, wenn man einmal die kurze Zeit berücksichtigt, die zwischen Pasteurisierung und Untersuchung lag, und andererseits die verhältnismäßig niedrigen Temperaturen beachtet, bei denen die Milch nach der Erhitzung in den Läden aufbewahrt wurde. Wie aus Tab. 12, Spalte 5 ersichtlich, betrug diese mit Ausnahme einiger Fälle im Juni/Juli weniger als 12° C, lag somit unter der gesetzlich vorgeschriebenen Grenze von 15° C. Dabei hatte eine wesentliche Keimzunahme kaum erfolgen können.

[1]) Klimmer, Haupt und Borchers, Milchw. Forsch. Bd. 9. H. 1 u. 2.
[2]) The milk order, dated May 25th, 1923.
[3]) Löhnis, Milchw. Zentralbl. Sonderabdruck 1929.

Eher als bei der pasteurisierten Milch war bei der rohen Marktmilch hinsichtlich der Keimzahlen eine gewisse Abhängigkeit von der Jahreszeit festzustellen, soweit die geringe Zahl der Proben überhaupt eine Beurteilung zuläßt. So konnten bei der Milch, die von November bis Anfang April entnommen wurde, durchschnittlich 1 577 000 Keime gezählt werden, während das Mittel aus den Keimzählungen der Milchproben im Juni/Juli 3 833 000 Keime je Kubikzentimeter betrug. Bei letzteren wurde die sehr keimreiche Milch Nr. 38 nicht berücksichtigt.

Wie vorauszusehen war, hatte die Art der Entnahme, d. h. die Sauberkeit der Gefäße, keinen sichtbaren Einfluß auf den Bakteriengehalt der Milch. So wiesen die in sterilen Erlenmeyern entnommenen Milchproben durchweg keine niedrigeren Keimmengen auf als die in Flaschen gekauften. Ebenso machte sich auch zwischen der pasteurisierten Flaschenmilch mit Alu-Verschluß (Nr. 12, 15 und 34) und der offen verkauften Marktmilch kein Unterschied bemerkbar. Das beweist, daß die nachträgliche, durch Kontakt mit Gefäßen und durch Luftkeime verursachte Keimvermehrung gegenuber einer im Stall während des Melkens stattfindenden Bakterieninfektion eine nur untergeordnete Rolle spielt.

Die Untersuchung hatte ergeben, daß sich die pasteurisierte Marktmilch bezüglich des kulturell nachgewiesenen Gesamtkeimgehaltes nicht merklich von der Vorzugs- und Markenmilch unterschied. Daß sie deshalb diesen aber an Qualität nicht gleichgesetzt werden kann, zeigte deutlich die mikroskopische Betrachtung des Sedimentausstriches. Während Vorzugs- und Markenmilch in der Regel äußerst bakterienarm waren, wiesen sowohl die rohe als auch die pasteurisierte Marktmilch einen hohen Gehalt an lebenden bzw. abgetöteten Mikroorganismen auf, unter denen Kokken und Kurzstäbchen bei weitem vorherrschten. Versporte Stäbchen, auf die hierbei in der Hauptsache das Augenmerk gerichtet werden sollte, wurden nur in 2 Fällen (pasteurisierte Marktmilch Nr. 13 und 33) beobachtet. Das ist sehr bezeichnend für das äußerst geringe zahlenmäßige Auftreten von Sporenbildnern, was ja durch die Untersuchungen bestätigt wurde.

Die Menge des Sedimentes, von dem die mikroskopischen Ausstriche erfolgten, war in allen Fällen gering. Sie schwankte zwischen 0,1 und 0,4‰. Die Mehrzahl der Proben ergab 0,2‰.

Wie ein Vergleich der in den Spalten 9 und 11 der Tab. 12 aufgeführten Zahlen erkennen läßt, lag die Gesamtzahl der fakultativ anaeroben Keime etwa in der gleichen Höhe wie die der aeroben Organismen. Daraus ist zu schließen, daß die meisten Bakterien der Milch unter anaeroben Bedingungen leben können.

Beträchtliche Unterschiede machten sich auffälligerweise nur bei der rohen Marktmilch bemerkbar insofern, als auf den in der Wasserstoffatmosphäre bebrüteten Platten sehr viel weniger Keime gezählt wurden als auf den aerob aufbewahrten Platten (z. B. Probe Nr. 16 und 38).

Der Grund für das abweichende Verhalten der unerhitzten Proben ist vielleicht darin zu suchen, daß ein erheblicher Teil der Flora aus Luftkokken bestanden hat, die infolge ihres starken Sauerstoffbedürfnisses nicht anaerob zu wachsen vermögen.

Deutlicher als aus der Tabelle werden die geschilderten Verhältnisse aus der graphischen Darstellung 1 (Abb. 6), in der auf der Abszisse die Milchproben nach steigender aerober Keimzahl geordnet wurden, während auf der Ordinate die Keimzahlen in 1000 Keimen je Kubikzentimeter angegeben sind.

Da sämtliche Proben berücksichtigt und auch die Colizahlen eingetragen werden sollten, mußte bei der Einteilung der Ordinate darauf entsprechend Rücksicht genommen werden. Aus der Parallelität der Kurven geht die zahlenmäßige Übereinstimmung von aerober und anaerober Keimzahl klar hervor.

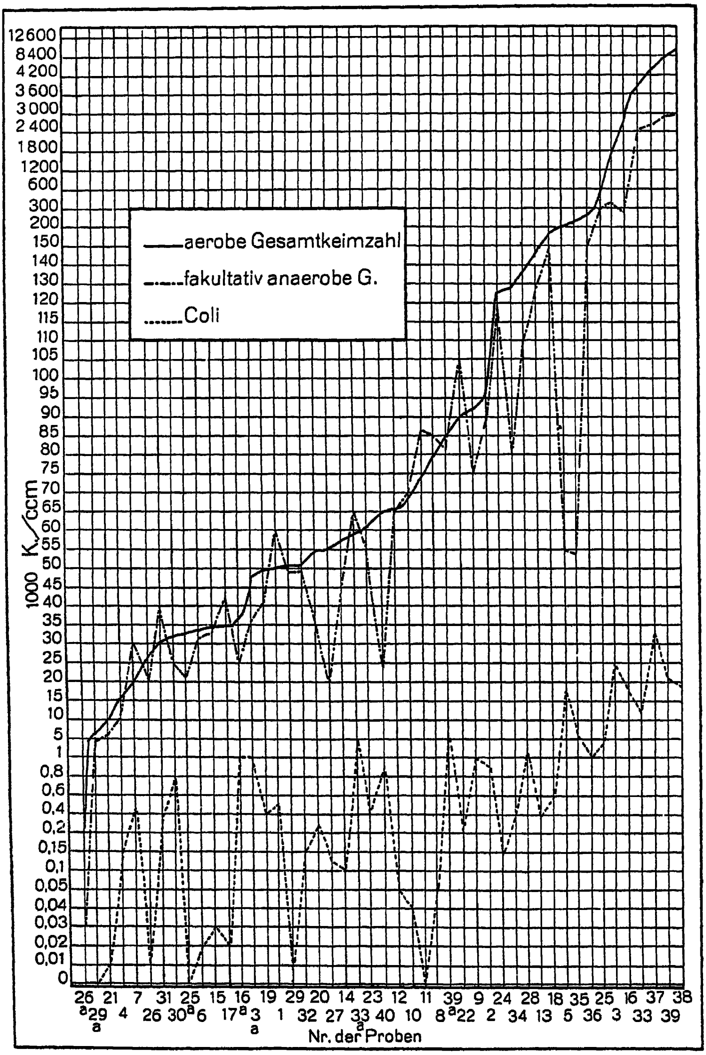


Abb. 6.

Außerdem ergibt sich aus der Anordnung der Milch nach steigender Keimzahl die interessante Tatsache, daß die Vorzugsmilch unter den Milchproben mit den niedrigsten Keimzahlen auf der linken Seite der Reihe ziemlich am Anfang steht. Im Gegensatz dazu sind die Marken- und die rohe Marktmilch ganz rechts an das Ende gerückt. Dazwischen rangiert der größte

Teil der pasteurisierten Marktmilch mit Keimzahlen zwischen 50 000 und 150 000. Dies erhellt nochmals mit besonderer Eindringlichkeit die Güte der rohen Vorzugsmilch.

Erwähnenswert erscheint in diesem Zusammenhang eine Beobachtung, die ganz allgemein gemacht werden konnte. Wie bereits angegeben, erfolgte die Bestimmung der Gesamtkeimzahl von Nr. 22 an außer auf Fleischextraktagar mit Laktosezusatz auf demselben Nährboden, bei dem der Milchzucker durch Traubenzucker ersetzt worden war. Dabei zeigte sich regelmäßig, wie aus nachstehender Tab. 13 hervorgeht, daß die Beigabe von Laktose zu höheren Werten führte als Glukose.

Tabelle 13.

Lfd. Nr.	Art der Proben	Aerobe Gesamtkeimzahl je ccm	
		Laktose-Agar	Glukose-Agar
22	Mk. past.	90 000	15 000
23	,, ,,	62 000	9 000
24	,, ,,	125 000	10 000
25	,, roh	600 000	250 800
25 a	,, past.	33 000	27 000
26	V. roh	28 000	15 000
26 a	,, past.	200	5
27	Mk. past.	55 000	23 000
28	,, ,,	138 000	80 000
29	V. roh	52 000	24 000
29 a	,, past.	7 200	3 200
30	Mk. ,,	32 000	26 000
31	,, ,,	29 000	10 000
32	,, ,,	52 000	35 000
33	,, roh	3 000 000	2 760 000
33 a	,, past.	59 000	43 000
34	,, ,,	128 000	47 000
35	M. roh	230 000	220 000
36	Mk. past.	284 000	243 000
37	,, roh	3 900 000	2 750 000
38	,, ,,	8 690 000	5 320 000
39	,, ,,	4 600 000	3 200 000
39 a	,, past.	86 000	75 000
40	,, ,,	75 000	60 000

Ähnliche Ergebnisse erzielte Espe [1]) bei seiner Arbeit: „Vergleichende Untersuchungen über Keimzahlbestimmungsmethoden". Er fand, daß bei Verwendung derselben Milch der in Deutschland gebräuchliche Laktose-Agar beträchtlich höhere Werte (oft das 10fache und mehr) lieferte als der amerikanische Standardnährboden (Bouillonagar ohne Milchzucker).

Es ist also notwendig, bei Keimzahlangaben stets die Zusammensetzung des verwandten Nährbodens anzuführen.

Der verschiedene Keimgehalt der Proben kommt auch in den Ergebnissen der Reduktaseprobe zum Ausdruck.

Wie aus Tab. 12, Spalte 6 ersehen werden kann, wies die pasteurisierte Marktmilch, mit wenigen Ausnahmen, recht einheitliche, hohe Reduktionszeiten auf. Die Vorzugsmilch unterschied sich davon kaum, während bei der Markenmilch, und weit mehr noch bei der rohen Marktmilch, kürzere Reduktionszeiten gemessen wurden.

---

[1]) Espe, Molkerei-Zeit. Hildesheim I. Nr. 44. 1930. S. 203 ff.

So hielt die pasteurisierte Marktmilch die Farbe durchschnittlich 8½. im Minimum 5½, im Höchstfalle 10½ Std. Die von Orla-Jensen[1]) für pasteurisierte Milch aufgestellte Forderung, daß diese die Farbe wenigstens 5½ Std. halten müsse, wurde also von allen Proben erfüllt. Die Vorzugsmilch lag mit durchschnittlich 8¾ Std. nicht wesentlich über der pasteurisierten Marktmilch. Auch sie entsprach den gesetzlichen Bestimmungen (in Bayern nach dem R. M. G. Mindestgrenze fur Vorzugsmilch 5½ Std.) vollauf. Bei der Markenmilch betrug die Durchschnittszeit 5½ Std., bei der rohen Marktmilch nur ca. 3 Std.

Vergleicht man diese Werte mit den Durchschnitts-Gesamtkeimzahlen der einzelnen Milchsorten, so läßt sich ein deutlicher Parallelismus erkennen:

Tabelle 14.

Milchart	Durchschnittliche Keimzahlen je ccm	Durchschnittliche Reduktionszeit in Std.
Vorzugsmilch	38 330	8¾
Pasteurisierte Marktmilch .	75 500	8½
Markenmilch	212 500	5½
Rohe Marktmilch	3 560 000	3

Würde man an Hand der Reduktionszeit eine Beurteilung der Milch vornehmen, so könnten nach der von Barthel und Orla-Jensen[2]) vorgeschlagenen Gruppierung Vorzugs-, pasteurisierte Markt- und Markenmilch als „gut" und in Klasse I gehörig, die rohe Marktmilch aber als „mittel" und in Klasse II gehörig bezeichnet werden.

Der zwischen Keimgehalt und Reduktionszeit bestehende Parallelismus kommt jedoch innerhalb der einzelnen pasteurisierten Proben oft nicht zum Ausdruck, wie folgende Beispiele beweisen:

Probe	33 a	past.	Marktmilch:	Gesamtkeimzahl	59 000,	Reduktionszeit	5½ Std.
„	23	„	„	„	62 000,	„	10½ „
„	4	„	„	„	16 500,	„	7 „
„	13	„	„	„	150 000,	„	10 „

Wenn es auch nicht immer so eindeutig wie hier war, so kann doch allgemein gesagt werden, daß die Befunde die Angaben von Rodenkirchen[3]) bestätigen, der bei seinen Untersuchungen an erhitzter Milch keine direkten Beziehungen zwischen Keimzahl und Reduktionszeit beobachtete.

Der Colititer der untersuchten Milchproben zeigte im wesentlichen dieselbe Tendenz wie die Gesamtkeimzahlen, bei der Zusammenfassung der entsprechenden Gruppen ergab sich also die gleiche Reihenfolge.

So wies die Vorzugsmilch die niedrigsten, die rohe Marktmilch die höchsten Werte auf, während die pasteurisierte Marktmilch und die Markenmilch dazwischen lagen.

[1]) Orla-Jensen, Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. Jena 1913. S. 171.

[2]) Barthel und Orla-Jensen, Milchw. Zentralbl. Bd. 41. 1912. S. 417.

[3]) Rodenkirchen, Milchw. Forsch. Bd. 6. 1928. S. 124.

Tabelle 15.

Milchart	Durchschnittliche Keimzahl je ccm	Durchschnittliche Coli-Zahl je ccm
Vorzugsmilch	38 330	12
Pasteurisierte Marktmilch .	75 500	1 219
Markenmilch	212 500	3 250
Rohe Marktmilch	3 560 000	18 370

Unterzieht man die einzelnen Milchsorten nunmehr einer näheren Betrachtung, so fallen zunächst die ganz erheblichen Schwankungen des Coligehaltes innerhalb der pasteurisierten Marktmilch auf. Während nur 2 Proben (6 %) colifrei gefunden wurden, wiesen 8 Proben (23 %) 1000 und mehr Coliorganismen je Kubikzentimeter auf. Besonders Nr. 5 zeichnete sich durch hohe Colizahlen (17 000 je ccm) aus. Dabei verdient die Tatsache Erwähnung, daß es sich bei der Milch mit höchsten Colizahlen in der Regel um solche handelte, die im Milchhof sofort nach der Erhitzung am Pasteur entnommen und nach kurzer Kühlung in Leitungswasser untersucht worden war. Augenfälliger wird das noch, wenn man die in Tab. 12, Spalte 15 zusammengestellten Werte die den Coligehalt in Prozenten der Gesamtkeimzahl angeben, berücksichtigt. Während in der Mehrzahl der Proben die Colibakterien weniger als 1 % der Gesamtkeime ausmachten, betrug bei diesen Proben, mit einer Ausnahme, ihr Anteil stets über 1 %, in 2 Fällen sogar über 7 %.

Bei einem Vergleich dieser Prozentzahlen mit den verhältnismäßig niedrigen, für die zugehörigen unerhitzten Milchproben errechneten, ergibt sich, daß der prozentische Coligehalt der betreffenden Milch durch Pasteurisierung erhöht worden war. Das hat seine Ursache natürlich nicht in einer absoluten Vermehrung der Colikeime, sondern darin, daß die Herabminderung der Gesamtkeimzahlen erheblich größer war als die Abnahme der Organismen der Coligruppe. Das ist um so erstaunlicher, als die Colibakterien nach Angabe von Henneberg und Wendt[1]) und Patzschke[2]) gewöhnlich recht hitzeempfindlich sind und in der Beziehung den Typhus-, Paratyphus- und Tuberkelbakterien gleichgestellt werden können.

Man ist geneigt, die verschiedene Art der Kühlung dafür verantwortlich zu machen. Während im Milchhof die Milch nach dem Pasteurisieren sofort auf 5° C tiefgekühlt und bei dieser Temperatur bis zur Ablieferung gehalten wird, wurde, wie schon gesagt, bei den entnommenen Proben nur eine oberflächliche Kühlung bis ca. 12° C vorgenommen.

Anscheinend ist das starke Temperaturgefälle bei der Abtötung der Colibakterien besonders wirksam[3]).

Aber auch abgesehen von diesen einzelnen Milchproben erscheinen die Colizahlen der pasteurisierten Marktmilch im Durchschnitt für erhitzte Milch beachtlich hoch. Nimmt man beispielsweise als Höchstgrenze für pasteurisierte Milch 100 Coli je Kubikzentimeter an, wie es wieder Klimmer, Haupt und Borchers in Vorschlag brachten, so lagen 24 Milchproben

[1]) Henneberg und Wendt, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 93. 1935. S. 39—40.

[2]) Patzschke, Ztschr. f. Hyg. Bd. 81. 1916. S. 227—255.

[3]) Kellermann, Vergleichende Untersuchungen über die Pasteurisierung von Milch und Rahm. Inaug.-Diss. Techn. Hochsch. München 1928.

(73%) darüber. Ihr Durchschnitts-Coligehalt betrug 1663 Keime je Kubikzentimeter.

Demgegenüber enthielt die Vorzugsmilch sehr wenige Coliorganismen (durchschnittlich 12 Keime je ccm), sie genügte den in Preußen erlassenen Bestimmungen (Höchstgrenze 30 Keime je ccm) vollauf.

Wenn sich also die Vorzugsmilch, wie im vorhergehenden gezeigt wurde, von der pasteurisierten Marktmilch hinsichtlich der Gesamtkeimzahl wenig unterscheidet, so ist letztere sicher an einem höheren Coligehalt zu erkennen.

Setzt man die ermittelten Colizahlen der Milchproben in Beziehung zu den Gesamtkeimzahlen, so tritt zwar bei der pasteurisierten Milch im einzelnen ein Parallelismus nicht klar zutage, die steigende Tendenz ist jedoch bei beiden Kurven offensichtlich. — Bessere Übereinstimmung zeigen die Rohmilchproben.

Wie daraus eindeutig hervorgeht, hängt die Menge der Coliorganismen in der Milch zweifellos von der Sauberkeit ihrer Gewinnung ab. Dasselbe gilt für die anaeroben Sporenbildner. So konnte Heinemann[1]) beispielsweise einen deutlichen Parallelismus zwischen Bact. coli und aeroben und anaeroben Sporenbildnern beobachten und Savage[2]) ermittelte den Bac. enteritidis sporogenes Klein fast genau so häufig wie das Bact. coli. Dagegen vermochten Hudson und Tanner[3]) keine bestimmten Beziehungen zwischen Anaerobengehalt und Colititer der Milch festzustellen.

Bei einer Gegenüberstellung der Colizahlen und der Resultate der Anaerobenprüfungen ergibt sich etwa das gleiche wie bei den Gesamtkeimzahlen. Von einem Parallelismus läßt sich bei den Rohmilchproben insofern sprechen, als sowohl in der Höhe des Colititers als auch in der Häufigkeit des Auftretens und der Menge anaerober Sporenbildner die Art der Milchgewinnung in gleicher Weise zum Ausdruck kommt. Das mag aus folgender Zusammenstellung (Tabelle 16) ersehen werden:

Tabelle 16.

Nr.	Milchart	Gesamtkeimzahl je ccm	Colititer je ccm	anaerobe Sporenbildner Zahl der Arten	anaerobe Sporenbildner Zahl der Organismen
26	V. roh	28 000	10	1	1
6	,, ,,	35 000	20	0	0
29	,, ,,	52 000	5	0	0
18	M. ,,	195 000	600	1	—
35	,, ,,	230 000	5 900	1	1
25	Mk. roh	600 000	4 000	4	100
3	,, ,,	1 700 000	25 000	3	100
16	,, ,,	2 340 000	17 000	3	100
33	,, ,,	3 000 000	10 500	3	100
37	,, ,,	3 900 000	32 900	4	—
39	,, ,,	4 600 000	20 200	3	100
38	,, ,,	8 690 000	19 000	2	—

Zeichenerklärung: V. = Vorzugsmilch; M. = Markenmilch; Mk. = Marktmilch.

[1]) Heinemann, Cream a. Milk Plant Monthly. Vol. 1. 1912. p. 12.
[2]) Savage, Ann. Rept. Local Gort. Board (Gr.-Brit.). Vol. 39. 1909/10. 474.
[3]) Hudson and Tanner, Journ. of Dairy Science. Vol. 5. 1922. p. 377.

Während bisher nur die mit Hilfe von Bromthymolblau-Agar erzielten Ergebnisse berücksichtigt wurden, sollen nun die nach dem Mc Conkeyschen Verfahren ermittelten Colizahlen den ersteren gegenübergestellt werden.

Ganz allgemein war zu beobachten, daß die Mc Conkey-Methode einen beträchtlich niedrigeren Colititer der Milch anzeigte als das Plattenverfahren. Nur bei 4 Proben (8,5%) lagen die Mc Conkey-Werte höher; in 8 Fällen (17%) waren sie etwa denen der Plattenmethode gleich.

Wie bedeutsam die Abweichungen waren, ergibt sich allein aus der Tatsache, daß bei Zugrundelegung der Bestimmungen des englischen Milchgesetzes nach der Mc Conkey-Methode nur 10 Milchproben (30%) die Höchstgrenze von 100 Coli je Kubikzentimeter überschritten, während nach der Plattenmethode 24 Milchproben (73%) den Vorschriften nicht genügten. Obgleich somit keineswegs von einer Übereinstimmung der Resultate der beiden Verfahren die Rede sein kann, war, soweit es die Annäherungswerte des Mc Conkeyschen Verfahrens zulassen, immerhin eine gewisse Parallelität vorhanden. Das geht auch aus dem Verlauf der beiden Kurven in der graphischen Darstellung 2 (Abb. 7) hervor.

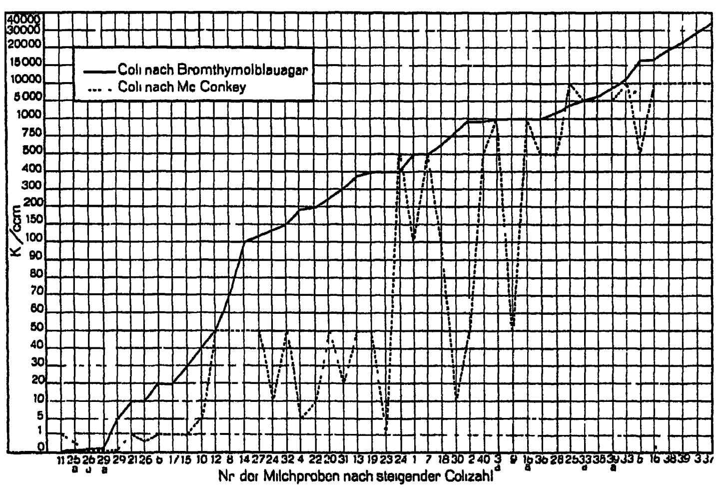


Abb. 7.

Es erhebt sich nun die Frage, wie die beträchtlichen Unterschiede zu erklären sind. Bekanntlich beruht der Nachweis von Coli bei Mc Conkey auf der Gasbildung, bei Bromthymolblau-Agar auf der Säuerung des Substrates.

Wie Untersuchungen gezeigt haben, bestehen zwischen den echten Vertretern der Coligruppe und den Milchsäurebakterien keine scharfen Grenzen. Somit muß angenommen werden, daß ein Teil der gezählten, deutlich säuernden Kolonien auf der Platte keine echten Colikolonien gewesen sind um so mehr, als sie im Wachstum denen von echten Milchsäurebakterien glichen und oft bei Einimpfung in Mc Conkey-Röhrchen wohl starke Säuerung, nicht aber Gasbildung erzeugten. Diese Annahme erhält eine weitere Stütze durch die Tatsache, daß zwischen den Ergebnissen der Plattenmethode und der Säuerung in Mc Conkey-Röhrchen grundsätzlich bessere Überein-

stimmung bestand, als zwischen denen der Plattenmethode und der Gasbildung im McConkey-Röhrchen[1]).

Diese auffällige Verschiedenheit der Resultate zwischen der deutschen und der englischen Methode der Bestimmung des Colititers mag zu einem gewissen Grade eine Erklärung dafür sein, warum in Deutschland die Colizahlen der Milch noch durchschnittlich höher liegen als in England.

E. Zusammenfassung.

1. Das Ziel der Untersuchungen bestand darin, die Anaerobenflora der Milch eingehend zu studieren und Beziehungen zur allgemeinen hygienischen Beschaffenheit der einzelnen Milchsorten festzustellen.

2. Als Material dienten 47 Handelsmilchproben, und zwar 33 Proben pasteurisierte Marktmilch, 7 Proben rohe Marktmilch, 2 Proben Markenmilch, 3 Proben Vorzugsmilch und 2 Proben Vorzugsmilch, die im Laboratorium 43 Sekunden auf 73° C erhitzt wurde.

3. 43 Milchproben (85,1 %) enthielten obligat anaerobe Organismen. Es wurden folgende 6 Arten, geordnet nach der Häufigkeit ihres Vorkommens, isoliert: Bac. putrificus verrucosus, Bac. saccharobutyricus, Bac. tetanomorphus, Bac. amylobacter, Bac. sphenoides und Pectinobacter amylophilum Makrinow.

4. Als durchschnittliche Keimzahlen konnten ermittelt werden:

für Bac. putr. verruc.	100 Keime je ccm Milch
„ Bac. saccharobut.	10—100 „ „ „ „
„ Bac. tetanomorph.	1— 10 „ „ „ „
„ Bac. amylobacter	1 Keim in 17 ccm Milch
„ Bac. sphenoides	1 „ „ 17 „ „

5. Die am häufigsten vorkommenden Anaerobier traten auch in höheren Verdünnungen auf, seltene Organismen ließen sich nur aus niedrigen Verdünnungen züchten.

6. In Marktmilch wurden annähernd 100 anaerobe Keime je Kubikzentimeter, in Vorzugs- und Markenmilch etwa bis zu 10 Keimen im Kubikzentimeter gezählt.

Es bestanden sowohl zwischen Sommer- und Wintermilch als auch zwischen roher und erhitzter Milch keine wesentlichen Unterschiede. Mithin befanden sich die anaeroben Organismen in Milch meist in Sporenform.

7. In einzelnen Fällen drückte die Pasteurisierung die Zahl der obligat anaeroben Sporenbildner herab; es wurde angenommen, daß diese in vegetativer Form anwesend waren.

8. Die Verwendung mehrerer Anreicherungsnährböden nebeneinander hat sich gegenüber der alleinigen Benutzung von Leberbouillon gut bewährt. Nur 25 % der Stämme wurden aus Leberbouillon erhalten.

9. Die vor der Bebrütung der Röhrchen erfolgte Erhitzung erwies sich als vorteilhaft. So konnten etwa zwei Drittel aller Stämme aus pasteurisierten Röhrchen gezüchtet werden.

10. Durch Verwendung von Sediment neben Milch als Impfmaterial bei der Anreicherung obligat anaerober Organismen wurde eine höhere Ausbeute erzielt.

[1]) Vgl. Tab. 12, Sp. 12—14.

Vornehmlich eignete sich die Sedimentmethode zur Erfassung kleiner Mengen von Keimen, sie stellt also eine Verbesserung der Anreicherungstechnik und eine Ergänzung der Milchverdünnungsmethode dar.

11. Die zum Nachweis der Anaerobeninfektion der Milch herangezogene Weinzirl-Probe zeigte in 87% der Fälle eine Übereinstimmung mit den Kulturverfahren.

Ein diagnostischer Wert, und vor allem eine Eignung für mengenmäßige Bestimmungen, kommt ihr im allgemeinen nicht zu, die in geringerer Zahl auftretenden Arten werden nicht erfaßt. Als Schnellmethode für den Molkereibetrieb ist sie jedoch brauchbar.

12. Die Empfindlichkeit der 3 gehandhabten Verfahren zum quantitativen Nachweis obligat anaerober Sporenbildner: der Weinzirl-Probe, der Sedimentmethode und der Milchverdünnungsmethode, verhielt sich wie 1 : 44 : 262.

13. Die allgemeine hygienische Beschaffenheit der untersuchten Milchproben läßt sich folgendermaßen zusammenfassen:

Milchart	Gesamtkeimzahl je ccm		
	Minimum	Maximum	Mittel
Vorzugsmilch	28 000	52 000	38 330
Markenmilch	195 000	230 000	212 500
Marktmilch (past.)	8 200	284 000	75 500
Marktmilch (roh)	600 000	8 690 000	3 560 000

Milchart	Coli-Organismen je ccm					
	Bromthymolblau-Platte			McConkey-Röhrchen		
	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
Vorzugsmilch	5	20	12	0	1	½
Markenmilch	600	5 900	3 250	100	5 000	2 550
Marktmilch (past.)	0	17 000	1 219	1	5 000	489
Marktmilch (roh)	4000	32 000	18 370	10 000	10 000	10 000

14. Die Gesamtkeimzahlen auf Fleischextrakt-Agar + Laktose lagen stets höher als auf dem gleichen Nährboden, bei dem der Milchzucker durch Traubenzucker ersetzt war.

15. Bei der Bestimmung des Coligehaltes der Milch ergab die McConkey-Methode beträchtlich niedrigere Werte als die Bromthymolblau-Plattenmethode.

16. Die Gesamtzahl fakultativ anaerober Keime lag etwa in der gleichen Höhe wie die der aeroben Organismen.

17. Zwischen den Mengen aerober und obligat anaerober Bakterien sowie den Organismen der Gruppe Bacterium coli bestand bei den Rohmilchproben ein gewisser Parallelismus, bei erhitzter Milch konnte er nicht nachgewiesen werden.

Tafelerklarung.

Die Herstellung der Photogramme erfolgte mit dem fur das Z e i ß sche Mikroskop vorgesehenen Aufsatz „Phoku" mit der Kameralinse L.

Abb. 1. Bac. putrificus verrucosus Zeißler. (Vergr. 4000fach.)

Abb. 2. Bac. saccharobutyricus v. Klecki. (Vergr. 4000fach.)

Abb. 3. Bac. saccharobutyricus v. Klecki (Polkorperbildung). (Vergr. 4000fach.)

Abb. 4. Bac. tetanomorphus. (Vergr. 4000fach.)

Abb. 5. Bac. amylobacter Zeißler. (Vergr. 4000fach.)

Abb. 6. Bac. sphenoides. (Vergr. 4000fach.)

Abb 7. Pectinobacter amylophilum Makrinow. (Vergr. 4000fach.)

Abb 8. Bac. putrificus verrucosus Zeißler (Kettenform). (Vergr. 4000fach.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Russell, E. J., Boden und Pflanze. 2. Auflage. Nach der 6. engl. Auflage bearbeitet von K. W. Müller, Zürich. XIII + 446 S. m. 60 Fig. im Text und 128 Tab. Dresden und Leipzig (Verlag Theodor Steinkopff) 1936. Preis brosch. 30 RM.

Es ist kein Lehrbuch und auch kein Handbuch im üblichen Sinne und will es auch nicht sein. Verf., der wie kein anderer über ein reiches Wissen auf dem Gebiete der Bodenkunde und der Pflanzenernährungslehre verfügt und die Forschungsmethoden, -richtungen und -ziele der Fachkollegen fast aller Länder auf Grund personlicher Fühlungnahme und Studien an Ort und Stelle kennt, gibt einen ausgezeichneten und umfassenden Überblick über das auf diesen Spezialgebieten Erreichte und weist auf Lücken hin, die zu schließen der zukünftigen Forschung vorbehalten ist. Auch die Bodenmikrobiologie ist gebührend berücksichtigt.

Der Text ist klar und leicht verständlich geschrieben, wo irgend möglich, sind auch die entsprechenden Literaturangaben als Fußnoten angegeben.

Ein Mangel haftet dieser Auflage leider an, wofür aber Verf. nicht verantwortlich gemacht werden kann, der selbst betont, daß die Kenntnis des Bodens „in den letzten Jahren rapide und weitreichende Fortschritte" gemacht habe. Die englische Auflage ist nämlich bereits 1932 erschienen und die deutsche Übersetzung erst 1936. Die Literatur von 1932—1936 fehlt also vollkommen.

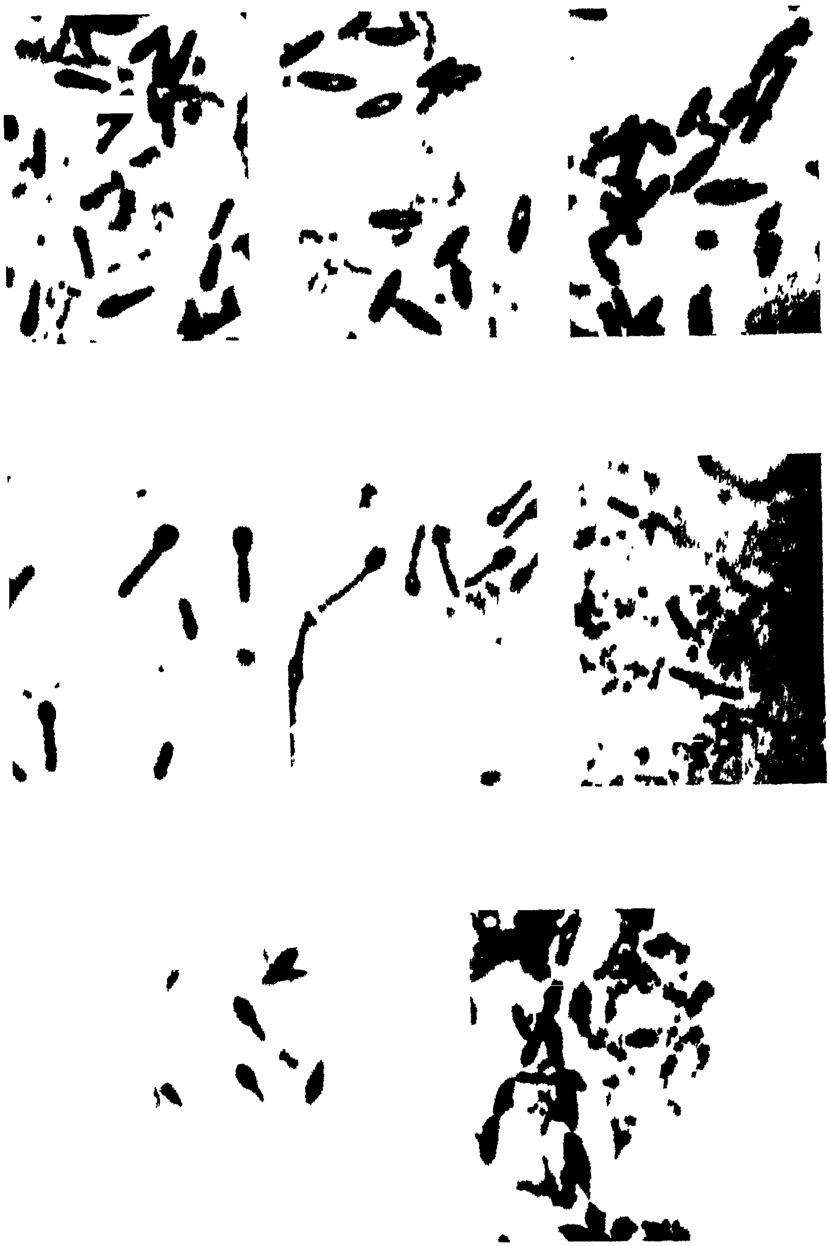
Dennoch ist G. Wiegner, Zürich, der das Vorwort zu dieser zweiten deutschen Auflage geschrieben hat, die gegenüber der ersten von 1914 etwa den doppelten Umfang besitzt, zuzustimmen, wenn er sagt, es sei nicht nötig „für ein Buch von Sir John Russell um Interesse zu bitten".

Stapp.

Hueck, K., Die Pflanzenwelt der deutschen Heimat und der angrenzenden Gebiete. Lieferung 81—90. Berlin-Lichterfelde (Verlag Hugo Bermühler) 1936. Preis 30 RM.

Hiermit liegt die Schlußlieferung des dritten und letzten Bandes dieses einzigartigen Prachtwerkes vor, das bekanntlich von der Staatlichen Stelle für Naturdenkmalpflege in Preußen herausgegeben ist.

Sie enthält die Fortsetzung des Abschnittes „Die alpine Vegetation" (vgl. Ref. Bd. 94. 1936. S. 523 dieser Ztschr.). und es werden darin behandelt die Legföhrenbestände und die übrigen alpinen Strauch- und Zwergstrauch-



Verlag von Gustav Fischer in Jena

gesellschaften — so erfahren wir z. B., daß Pinus montana in den Bayrischen Alpen Höchstgrenzen bis 2250 m erreicht und daß in den Abruzzen diese Höhe von den gleichen Kiefern noch um 400 m überschritten wird — die alpinen Rasengesellschaften, die Hochstaudenfluren und die Schneetälchen. Es wird dann auf die Pflanzenwelt der alpinen Seen und Moore und auf die Vegetation des Schutts und der Felsen eingegangen. Zum Schluß werden die Unkräuter ganz kurz behandelt, wobei die Einteilung in Segetal- und Ruderalflora beibehalten und auch eine Liste von Leitpflanzen gegeben wird, die als „Zeiger" für kalkreiche bzw. kalkarme Böden in der Landwirtschaft gewertet werden.

Klarheit der Darstellung. Sachlichkeit im Aufbau, künstlerische Sichtung der Bildbeigaben zeichnen auch diese Lieferung aus. Wer das Werk in die Hand nimmt, wird den Wunsch in sich tragen, es zu besitzen. Stapp.

Oppenheimer, C. und Pinkussen, L., Tabulae Biologicae Periodicae. Bd. 5, Nr. 4, Bd. 6, Nr. 1 u. 2. Den Haag (Verlag Dr. W. Junk) 1936. Bandpreis 32,50 Fl.

Das Schlußheft von Band 5 enthält die Fortsetzung der Carbohydrasen II von W. Roman, Die Molekülkonstanten der Eiweißkörper von The Svedberg und J. B. Eriksson-Quensel und Giftige Wirbeltiere II von Th. A. Maass.

Die beiden ersten Hefte von Band 6 bringen Sportphysiologie von H. Herxheimer, Pflanzliche Chromosomenzahlen (Nachtrag) von G. Tischler, Kurze elektrische Wellen von E. Hasché, Chemotherapie der Spirochaetosen I und II von W. A. Collier und Formicidae II von H. Stitz.

Für forschend tätige Naturwissenschaftler und Ärzte sind diese biologischen Tabellen ein schwer entbehrliches Hilfsmittel. Stapp.

Moritz, O., Einführung in die Allgemeine Pharmakognosie. XII + 350 S., m. 8 Abb. im Text. Jena (Verlag Gustav Fischer) 1936. Preis brosch. 15 RM., geb. 16.50 RM.

Von den früher üblichen Lehrbüchern über Pharmakognosie weicht das vorliegende in Aufbau und Behandlung des Stoffes erfreulicherweise stark ab.

Es wird der Versuch gemacht, die altherkömmliche Darstellung insofern etwas interessanter zu gestalten, als auch die wichtigsten Grundbegriffe von den Wirkungen der Drogen und den beeinflußten Organsystemen des menschlichen und tierischen Körpers vermittelt werden, also auch Gebiete behandelt, die nicht unmittelbar zur Pharmakognosie gehören, zum vollen Verständnis der Bedeutung dieser Disziplin aber notwendig sind.

Die Pharmakognosie deshalb zu einer „pharmazeutischen Biologie" stempeln zu wollen, wie Verf. das bewußt tut, ist jedoch nicht angängig, will man nicht von der klaren Definition „Biologie" abweichen, was ein gefährliches Experiment bedeuten würde. Auch manche neue Wortprägungen des Verf.s werden nicht allgemein Beifall und Anerkennung finden. Das gilt vor allem für die Bezeichnung „Ersatztherapie", worunter Verf. die künstliche Zufuhr von bestimmten Stoffen wie Pepsin oder Insulin und dergl. zum Körper versteht, in dem diese nicht oder nicht mehr in genügender Menge gebildet werden.

Von diesen persönlichen Anschauungen abgesehen, gibt das Buch, das in 2 Hauptteile zerfällt, von denen der erste die „Drogen und Drogenpräparate

der Ersatztherapie" und der zweite die „Drogen der übrigen Therapiegebiete, vor allem der Reiz-, Umstimmungs- und Symptomtherapie" behandelt, in geschickter Weise und in fesselnder Form einen vorzüglichen Überblick über den modernen Stand unserer Kenntnisse des Ursprungs, der Gewinnungsweise, der wirksamen Stoffe, ihrer Chemie und z. T. auch der Wirkungsweise unserer Drogen und Drogenpräparate, wobei auch kurz u. a. auf Heilpflanzenzüchtung und -anbau und die volkswirtschaftliche Bedeutung der Drogenerzeugung eingegangen wird.

Es ist damit in gleicher Weise wertvoll für den Pharmazie-, den Botanik-, den Pflanzenzucht- und auch den Medizin-Studierenden. Stapp.

Snell, K. und Geyer, H., Die Kartoffelsorten der Reichssortenliste, ihre Erkennung, Unterscheidung und wirtschaftliche Bedeutung. 2. ergänzte Auflage. 84 S., m. 30 Abb. Berlin (Verlag P. Parey) 1936. Preis brosch. 1.80 RM.

Die Reichssortenliste 1936 enthält 68 für die Anerkennung als Handelssaatgut zugelassene Kartoffelsorten, davon dürfen noch immer 28 nur bedingt gehandelt werden.

Im allgemeinen Teil werden Knollen- und Staudenmerkmale sowie die wirtschaftlichen Eigenschaften beschrieben, der spezielle Teil enthält die Einzelcharakterisierung der zugelassenen Sorten in alphabetischer Sortenfolge, den Schluß bildet die Reichsliste der Sorten und eine Zusammenstellung der darin aufgeführten frühen Sorten und derjenigen mit langen und mit gelbfleischigen Knollen, sowie eine Züchterliste und eine Aufstellung der vorhandenen Züchterringe.

Allen Interessenten dürfte diese Veröffentlichung willkommen sein.

Stapp.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Thorne, D. W., Neal, O. R., and Walker, R. H., Physiological studies on Rhizobium. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 477—487.)

Verff. untersuchen Sauerstoffverbrauch und Kohlensäurebildung bei Rhizobium japonicum, leguminosarum, meliloti, phaseoli, trifolii nach der Warburg-Technik.

Der mittlere Respirationsquotient (CO_2/O_2) innerhalb 24 Std. ist in Glukosenährlösung mit gebundenem Stickstoff bei japonicum und leguminosarum erheblich niedriger als für die drei anderen. Ohne Stickstoff war kein Unterschied vorhanden. Im zeitlichen Verlauf ist der R.Q. für japonicum stets niedriger als für jene drei, während er bei leguminosarum völlig schwankend ist.

Mit Hefeextrakt als Stickstoffquelle war der R.Q. niedriger als mit Asparagin, hier wieder niedriger als mit anorganischem Stickstoff als N-Quelle. Hefeextrakt fördert Atmung und Wachstum viel stärker als eine andere N-Quelle. Verff. betrachten ihn als wirksamen Wasserstoff-Donator.

Rippel (Göttingen).

Bond, G., Quantitative Observations on the Fixation and Transfer of Nitrogen in the Soya Bean, with Especial Reference to the Mechanism of Transfer of Fixed Nitrogen from Bacillus to Host. (Ann. Bot. Vol. 50. 1936. p. 559—578.)

Die Untersuchung bei der Sojabohne zeigte, daß der N-Transport von den Knöllchen zur Pflanze zur selben Zeit erfolgt wie die Bindung in den

Knöllchen durch die Bakterien. Während der Zeit des Wachstums der Knöllchen geht noch ein N-Transport von der Wirtspflanze zu den Knöllchen. In der Entwicklungszeit der Pflanze geht fast der gesamte gebundene N der Bakterien und Knöllchen in den Wirt über. Die Knöllchen häufen kaum den N in sich an, die Höchstwerte der Bindung und des Transportes von N werden während der Blühperiode erreicht. In dieser Zeit oder kurz danach setzt der Zerfall der Knöllchen ein. Zwischen der Menge des von den Knöllchen zum Wirt gebrachten N und derjenigen der augenscheinlichen Bindung bestehen Beziehungen, was besonders deutlich wird, wenn beide Größen für verschiedene Wachstumperioden ins Verhältnis gesetzt werden. Dieser Quotient ist eine Konstante. Durchschnittlich werden mehr als 75% des gebundenen N der Pflanze überliefert. Unter der Annahme, daß die Beobachtungen Virtanens zu Recht bestehen, wonach ein großer Teil des gebundenen N wieder ins umgebende Medium entlassen wird, erhöht sich die Zahl für den der Pflanze abgegebenen N auf 80—90%. Auf Grund der Experimente Virtanens allein läßt sich nach Ansicht Verf.s jedoch nicht der hohe Anteil des abwandernden N erklären. Er weist darauf hin, daß die Auflösung der Bakterien schon im Jugendstadium der Knöllchen erfolge, dieser Umstand sei bei den bisherigen zytologischen Untersuchungen übersehen worden. Autolyse oder Bakteriophagie reichen ebenfalls nicht zur Erklärung aus. Es soll vielmehr eine passive Ausscheidung N-haltigen Materials durch die Bakterien erfolgen. Die Tatsache, daß die Bakterien ca. 90% des gebundenen N verlieren, kann so erklärt werden, daß der Bindungsprozeß bei B. rad. ein exothermer Vorgang ist, eine Art Atmung, die mit entsprechenden Vorgängen bei den Schwefel- und nitrifizierenden Bakterien verglichen werden kann. Mit der Ansicht Virtanens, daß es sich um einen Buttersäuregärprozeß (Reduktion der Zucker) handele, kann Verf. sich somit nicht einverstanden erklären. Das Primäre der Bindung wäre demnach nicht eine Proteinsynthese. Die während der Entwicklung der Wirtspflanze auftretende Verminderung der bakteriellen Tätigkeit ist auf einen Mangel an benötigten Kohlehydraten zurückzuführen. Möglicherweise ist diese Erscheinung auch durch die Ansammlung untätiger Bakterien bedingt (Bakterioden). Es bleibt noch zu prüfen, ob die an der Sojabohne gemachten Feststellungen auf Leguminosen verallgemeinert werden können.

Skallau (Berlin).

Virtanen, A. I., Bemerkung zu der Arbeit von A. Rippel: „Über die Wirkung von geringen Mengen Agar auf Wachstum und Stickstoffbindung von Azotobakter und auf andere mikrobiologische Vorgänge". (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 488—489.)

Verf. weist darauf hin, daß er vor kurzem die gute Wirkung von 0,1% Agar in flüssiger Nährlösung auf Aspergillus niger in einer kurzen Notiz beschrieben hat. Die Ursache der Erscheinung blieb unaufgeklärt.

Rippel (Göttingen).

Dominik, T., Grzby pasorzytnicze zebrane w okolicy Wloclawka w sierpniu 1934 roku. [Champignons parasitiques aux environs de Wloclawek.] (Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 12. 1935. p. 201—205.)

Vorliegende Arbeit enthält eine Aufstellung verschiedener Schadpilze aus der Gruppe der Phykomyzeten, Askomyzeten und Basidiomyzeten, die Verf. in der Umgegend von Warschau gesammelt hat. Skallau (Berlin).

Dominik, T. und Morawski, M., Spostrzezenia nad gatunkami Ithyphallus impudicus (L.) Fr. i Ithyphallus imperialis Schulzer. [Bemerkungen zu I. impud. und I. imper.] (Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 12. 1935. p. 289—298.)

Bei vergleichenden Studien der Literatur mit eigenen Beobachtungen an Ithyphallus impudicus (L.) Fr. und Ithyphallus imperialis (Schulzer) kommen Verff. zu der Überzeugung, daß die von Schulzer als eigene Art aufgestellte Form ihre Berechtigung hat. Zum Beweise stellen sie die wichtigsten Merkmale beider Formen in einer Tabelle zusammen. Skallau (Berlin).

Fehér, D., Untersuchungen über die regionale Verbreitung der Bodenalgen. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 439 bis 476.)

Es wird die Algenflora von 118 genau charakterisierten Böden der verschiedensten Standorte (vornehmlich Waldböden, aber auch Ackerboden, Ödlandboden, Sumpfboden, Wüstenboden usw.) aus allen 5 Erdteilen aufgenommen. Festgestellt werden 688 Arten, deren Standort und Anteil an der Algenflora in einer großen Liste angegeben ist. Daran schließen sich Zusammenstellungen der in den einzelnen Erdteilen gefundenen Formen. Die zahlreichen in Wüstenböden festgestellten Formen sind ebenfalls besonders aufgeführt.

Ferner wird noch die Algenflora des Wiener Schneebergs von 3 Stellen verschiedener Höhenlage (500—2000 m) aufgeführt.

Rippel (Göttingen).

Sheffield, F. M. L., The role of plasmodesmes in the translocation of virus. (Ann. Appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 506.)

Verf. ging bei seinen Untersuchungen von dem Befund aus, daß die intrazellularen Körperchen (X-bodies), die bei vielen Viruskrankheiten in Einzahl in den Zellen vorgefunden werden, nie in den Schließzellen der Stomata nachzuweisen waren, auch wenn sonst die Zellen der Epidermis auf weite Strecken diese Körperchen enthielten. Verf. untersuchte, ob dies etwa darauf beruht, daß die Schließzellen nicht durch Plasmodesmen mit ihren Nachbarzellen in Verbindung stehen. Tatsächlich stellte er fest, daß die Plasmodesmen fehlen. Da das Virus nach den früheren Untersuchungen von Henderson Smith und Kenneth M. Smith bei seinem Vordringen von Zelle zu Zelle auf die Plasmaverbindungen angewiesen ist, erklärt sich daraus das Fehlen der betreffenden Körperchen. Offenbar dringt das Virus nicht in die Schließzellen vor. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Langenbuch, R., Bericht des Kartoffelkäfer-Abwehrdienstes Heidelberg. II. Bekämpfungsmaßnahmen. (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. 16. Jahrg. 1936. S. 105—108.)

Folgende Bekämpfungsmaßnahmen wurden angewandt: Absammeln, Durchsieben und Entseuchen des Bodens, Spritzen des Kartoffellaubes mit Bleiarsenat. Die Bodensiebung wurde zumindest bei allen Funden von Jungkäfern und Altlarven durchgeführt. Fiel sie positiv aus, so wurden die Befallsstellen in einem Umkreis von mehreren Metern mit Schwefelkohlenstoff entseucht. Die Größe der zu behandelnden Bodenfläche war

durchschnittlich 20—60 qm. Insgesamt wurden von den Pflanzen abgesammelt bzw. beim Bodensieben erbeutet: 123 Käfer, 3530 Larven, 38 Eigelege, 188 Puppen. Bei der Bekämpfung mit Bleiarsenat kamen Batteriespritzen und fahrbare Kartoffelspritzen zur Anwendung, die samt den sonstigen Hilfsgeräten zu 8 motorisierten Einheiten zusammengestellt und auf die in der Gefahrenzone liegenden Hauptstellen für Pflanzenschutz verteilt wurden. Gespritzt wurden insgesamt 2506 ha Kartoffelland. An Bleiarsenat betrug der Verbrauch 21 807 kg = 4 361 500 l Spritzbrühe.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Sy, M., Zur Bekämpfung der Rhododendronwanze Stephanitis rhododendri Horv. (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. 16. Jahrg. 1936. S. 98—99.)

Versuche zur Bekämpfung der Rhododendronwanze wurden im Laboratorium mit Pyrethrum, Derris, Nikotin, Quassia und Seife durchgeführt. Die ersten drei Insektizide kamen als Spritz- und Stäubemittel mit und ohne Zusatz von Seife zur Anwendung. Im Freiland liefen Versuche mit einem Derrisspritzmittel, das einen 2 proz. Seifenzusatz hatte. Die Spritzmittel waren im allgemeinen wirksamer als die Stäubemittel. Die besten Ergebnisse wurden mit Derris + 0,5% Seifenzusatz erzielt, das die Tiere in 2 Tagen sämtlich abtötet. Denselben Erfolg hatten Pyrethrum und Nikotin, jedoch mit einem Seifenzusatz von 2%. Praktisch unwirksam waren Seife und Quassia; völlig ohne Wirkung blieben Nikotinstäubemittel. Durchweg hatten alle Mittel gegen die Imagines einen besseren Erfolg als gegen die Larven. Im Freiland ist eine volle Wirkung besonders in den Anzuchtbeeten wegen der dichten Belaubung nicht immer zu erwarten. Immerhin hatte auch hier Derris mit 0,5% Seifenzusatz noch ein gutes Ergebnis gezeitigt. Die Spritzung muß aber bei Bedarf mehrfach wiederholt werden.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Mjazdrikowa, M. N., Raupenschäden der Gemüsekulturen. (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 4. 1936. S. 28—30.) [Russisch.]

Im Gemüsebau hat sich die Bewässerung als gute Bekämpfungsmethode gegen Agrotis erwiesen, die einerseits auf die Pflanzen kräftigend wirkt und andererseits die Raupen in die tieferen Bodenschichten vertreibt. Die vor der Bewässerung auf je 1 qm Fläche gefundene Raupenzahl betrug 8,6 Stück, nach der Bewässerung aber stellte sie sich nur auf 1,2 Stück. Das Begießen der Zwiebeln mit einer Seife-Petroleumemulsion (7 g Seife + 33 g Petroleum je 1 l Wasser) verminderte die Verbreitung der Schädlinge um 33%.

M. Gordienko (Berlin).

Pustet, A., Die Bekämpfung der Bisamratte in Deutschland 1935/36. (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. 16. Jahrg. 1936. S. 115—119.)

Die Bisamratte hatte im letzten Jahrzehnt die natürlichen Hindernisse, die ihr Vorgehen beeinträchtigen und die Abwehr erleichtern konnten, überwunden und stand nun in einem Gelände, das ihr Vordringen beschleunigen mußte. Im Süden und Südwesten übte sie einen starken Druck auf die Donau- und Lechlinie aus, während sie im Nordwesten das Stromgebiet der Weser in breiter Front bedrohte. Im Norden war sie über die Elbe vorgedrungen und rückte nun gegen das Seengebiet zwischen Elbe und Oder vor, die sie in Schlesien bereits erreicht hatte. Nachdem nunmehr die Leitung der Bisamrattenbekämpfung in einer Hand liegt, wurde eine einheitliche

Abwehrfront nach hydrographischen und bekämpfungstaktischen Gesichtspunkten errichtet. Darauf mußten die Vorpostenstellungen der Bisamratte erkundet und ausgehoben sowie für die Beseitigung jeglichen Nachschubes gesorgt werden. Ferner wurde dort weitergearbeitet, wo die Befallsdichte durch scharfe Gegenwirkung bereits aufgelockert war, so daß diese Gebiete in absehbarer Zeit als geräumt gelten können. Schließlich konnte der Angriff auf einige Vorsprünge in der Reichsfront vorgetragen werden, wodurch zugleich eine wesentliche Verkürzung der Abwehrfront und ein wirksamer Angriff erreicht wurde. Als Ergebnis dieser Maßnahmen zeigte sich, daß die von der Bisamratte verteidigte Befallsgrenze bereits an mehreren Stellen ins Wanken geraten war. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Meyer-Bahlburg, Engerlingsbekämpfung durch planmäßige Schälarbeit. (Deutsche Landw. Presse. 63. Jahrg. 1936. S. 435.)

Verf. empfiehlt, möglichst 24—48 Std. nach einem durchdringenden Regen den Boden zu schälen, da dann die Engerlinge ans Tageslicht befördert und so dem Zugriff ihrer natürlichen Feinde (Krähen, Möven, Stare, eingetriebene Hühner) ausgesetzt werden. Nicht zu unterschätzen ist auch die Einwirkung von Wind und Sonne, die den Engerling in 20—30 Min. abtötet, wenn er innerhalb dieser Zeit das schützende Erdreich nicht wieder erreicht hat. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Hartzell, A., and Wilcoxon, Fr., Relative toxicity of pyrethrins I and II to insects. (Contrib. Boyce Thomps. Inst. Vol. 8. 1936. p. 183—188.)

Von den einzelnen Autoren werden immer noch verschiedene Angaben über die Giftigkeit von Pyrethrin I und II für tierische Pflanzenschädlinge gemacht. Verff. haben daher das aus Chrysanthemum cinerariaefolium Bocc. gewonnene Öl in verschiedenen Konzentrationen und Lösungsmitteln in seiner Wirksamkeit auf Aphis rumicis ausprobiert. Je nach dem angewandten Lösungsmittel war ein Unterschied in der insektiziden Wirkung von P. I oder II zu beobachten, in Penetrol sind beide gleich stark, in Azeton dagegen ist I bedeutend stärker als II, wenn hohe Konzentrationen gebraucht werden. Außerdem spielt die Methode der Anwendung eine große Rolle, je nach dem durch Wasser z. B. hervorgerufenen Emulsionsgrad fällt die Giftwirkung anders aus bei beiden Pyrethrinen. Verff. sehen in der unterschiedlichen Anwendung der einzelnen Autoren den Hauptgrund für die auseinandergehenden Ergebnisse.

Skallau (Berlin).

Kowaljewa, M. F., Die Maßnahmen zur Bekämpfung der Apfelmotte. [Arbeiten des Mitschurins Instituts f. Obstbau.] (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 5. 1936. S. 22—25.) [Russisch.]

Die besten Ergebnisse wurden erzielt beim Bespritzen mit Pariser Grün (schon nach einmaligem Bespritzen wurde ein 75 proz. Absterben der Raupen festgestellt). Anabazin-Sulfat ergab gute Resultate nur bei höherer Lufttemperatur (nicht unter 20° C). Fluorpräparate haben beim einmaligen Bespritzen nur geringe Wirkung gezeigt, beim zweimaligen aber war dieselbe befriedigend. M. Gordienko (Berlin).

Abgeschlossen am 10. Februar 1937.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 96. No. 5/8.
Ausgegeben am 7. April 1937.

Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens.

V. Mitteilung.

Der Einfluß von T. S.-Hormon (Follikel-Hormon) auf Tumorbildung und Gesamtentwicklung der mit Pseudomonas tumefaciens infizierten Wirtspflanzen.

[Aus der Mikrobiologischen und Chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **C. Stapp.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Über die Wirkung östrogener Stoffe auf das Pflanzenwachstum liegt eine große Anzahl von Arbeiten[1]) vor, die in ihren Ergebnissen zum Teil durchaus widersprechend sind. Auf die Gründe dieser Unstimmigkeiten einzugehen, liegt kein Anlaß vor, da die Problemstellung hier eine ganz andere ist als bei den bisherigen Untersuchungen.

Mit meinem Mitarbeiter Dr. Bortels zusammen konnte ich im Jahre 1931 den eindeutigen Nachweis erbringen, daß die Tumorentwicklung weitgehend abhängig ist vom Blühen und Fruchten der mit Pseudomonas tumefaciens infizierten Wirtspflanzen, insofern als durch Verlängerung des vegetativen Wachstums der Wirtspflanze die Größenzunahme des Tumors begünstigt, im Falle der Verkürzung der vegetativen Wachstumsperiode die Tumorentwicklung gehemmt wird.

Da die östrogenen Substanzen den Aufblühtermin verkürzen und die Blühwilligkeit ganz allgemein fördern sollen, so müßte sich das folgerichtig auch auf die Tumorbildung der mit entsprechenden Hormonen gedüngten Pflanzen auswirken, und zwar in der Richtung, daß durch die Zuführung des Hormons bei solchen Pflanzen, die gleichzeitig mit Pseudomonas tumefaciens infiziert sind, gegenüber den nicht mit Hormon behandelten Pflanzen die Tumorentwicklung mehr oder weniger deutlich gehemmt würde.

---

[1]) Literatur siehe: Harder, R. und Störmer, J., Follikelhormon und Bluhtermin der Hyacinthen. (Biochem. Ztschr. Bd. 280. 1935. S. 126—136.) Weitere Untersuchungen uber den Einfluß des Follikelhormons auf die Pflanzen. (Jahrb. wissenschaftl. Bot. Bd. 81. 1935. S. 383—410.)

Boysen-Jensen, P., Die Bedeutung der Wuchsstoffe fur die Pflanzenproduktion. (Ztschr. Pflanzenernahrung, Dungung und Bodenkunde. Bd. 43. 1936. S. 142—152.)

Nehring, K. und Möbius, H., Über die Wirkung von Stoffen östrogener Natur auf das Pflanzenwachstum. (Ztschr. f. Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde. Bd. 44. 1936. S. 95—140.)

Als Versuchspflanzen dienten Tomaten, und zwar wurden im Jahre 1934 folgende 7 Sorten verwendet: Augusta, Beste von Allen, Bonner Beste, Sieger, Überreich, Westlandia und Ailsa Craig.

Als Hormon wurde eine T. S.-Hormonlösung der Schering-Kahlbaum A.-G., Berlin, verwandt, von der 1 ccm 100 Mäuse-Einheiten (= M. E.) entsprach.

Zur Infektion wurde der hochvirulente Stamm Dahlia Ra[1]) von Pseudomonas tumefaciens benutzt.

Die Versuchspflanzen wurden aus größeren Pikierkästen am 4. 5. 1934 einzeln in 8-cm-Töpfe verpflanzt und im Gewächshaus aufgestellt. Am 7. 5. 1934 wurde der Versuch begonnen; zu dieser Zeit hatten die Tomaten eine Höhe von 11—15 cm erreicht.

Die Versuchsanordnung war die folgende: Je 2 Pflanzen jeder Sorte wurden

a) mit Hormon behandelt und nicht geimpft = H,
b) „ „ „ und mit Pseud. tumefaciens geimpft = H+Ra,
c) nicht „ „ aber mit Pseud. tumefaciens geimpft = Ra,
d) „ „ „ und nicht geimpft = K.

An Hormon wurde den Pflanzen der α- und β-Reihe in wöchentlichen Abständen je 1000 M. E. = 10 ccm der T. S.-Hormonlösung verabreicht und zwar im ganzen 9 Wochen lang, wobei in den ersten 6 Wochen die Düngung in der Weise erfolgte, daß die Erde der Töpfe zunächst schwach mit Leitungswasser angefeuchtet und darauf die je 10 ccm der Hormonlösung verabfolgt wurden, während in den letzten 3 Wochen die Hormonlösung zunächst mit der doppelten Menge Wassers verdünnt und hiervon 30 ccm je Pflanze gegeben wurde.

Die erste Hormongabe erfolgte am 7. 5., die Impfung mit Pseudomonas tumefaciens am 8. 5. 1934. Die Infektion der betreffenden Pflanzen wurde in der Weise durchgeführt, daß sowohl etwa 2 cm oberhalb der Bodenoberfläche als auch etwa 3 cm unterhalb des Vegetationspunktes die Bakterienmasse einer 48 Stunden alten Bouillonagarkultur in mit feinem Skalpell erzeugte möglichst gleichgroße Wunden eingetragen wurde.

In Abständen von 10—14 Tagen wurde der Längenzuwachs aller Pflanzen und die Tumorentwicklung der geimpften Pflanzen registriert.

Am 30. 5. 1934 zeigten die hormongedüngten und geimpften Pflanzen der Sorte Westlandia eine wenig bessere Entwicklung der Tumoren als die nicht gedüngten, bei den Sorten Augusta und Bonner Beste war es nur je eine Pflanze.

Am 31. 5. 1934 wurden die Pflanzen mit Töpfen in ein unbedecktes Kaltbeet gestellt.

Am 11. 6. 1934 blühte bereits der größte Teil der Versuchspflanzen, ohne daß sich Unterschiede ergaben zwischen hormongedüngten und nichtgedüngten Pflanzen.

Die Größen der Pflanzen zu dieser Zeit sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Am 15. 6. wurden die Pflanzen in Töpfe von 13 cm Durchmesser verpflanzt. Es wurden mit Absicht anfangs die Pflanzen in den kleinen Töpfen belassen. Die schnelle und vollkommenere Aufnahme des Hormons sollte auf diese Weise erreicht werden. In den größeren Töpfen, die im Verhältnis

[1]) Stapp, C., Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens. IV. Mitt. Eine neue Wirtspflanze (Dahlia variabilis Desf.) mit hochvirulentem Erreger. (Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 95. 1936. S. 273—283.)

zur Pflanze später auch klein erschienen, blieben die Pflanzen aus demselben Grunde bis zum Versuchsabbruch.

Tab. 1. Länge der Tomatenpflanzen in Zentimeter am 11. 6. 1934.

Behandlungsart	Tomatensorte						
	Augusta	Beste von Allen	Bonner Beste	Sieger	Über-reich	West-landia	Ailsa Craig
H < α	39	34	42	41	47	34	38
H < β	38	32	39	42	43	42	35
H + Ra < α	36	28	31	38	37	38	30
H + Ra < β	30	30	34	32	28	31	37
Ra < α	41	29	38	41	41	36	32
Ra < β	40	30	38	41	33	40	28
K < α	37	28	34	38	39	36	34
K < β	32	29	37	33	37	35	—

α und *β* sind die beiden Parallelen.

In dem Kaltbeet, das in der West-Ost-Richtung lag, wurden die Töpfe wöchentlich umgestellt, um die Gleichmäßigkeit der Belichtung aller Pflanzen nach Möglichkeit zu gewährleisten und das Durchwurzeln vom Topf in das Erdreich der Beete soweit als möglich zu verhindern. Letzteres gelang zwar nicht vollständig, trat aber nur bei einzelnen Töpfen und in einem Maße auf, das die Versuchsergebnisse nicht beeinträchtigen konnte.

Am 25. 6. 1934 standen alle Versuchspflanzen in Blüte und hatten bis auf je eine Pflanze der Sorte Augusta, Beste von Allen, Sieger, Überreich und Ailsa Craig bereits Früchte angesetzt.

Tumormessungen des gleichen Tages hatten folgendes Ergebnis:

Tab. 2. Tumorgröße[1]) in Zentimeter am 25. 6. 1934.

Behandlungsart	Tomatensorte						
	Augusta	Beste von Allen	Bonner Beste	Sieger	Über-reich	West-landia	Ailsa Craig
H + Ra < α	1,0[2])	2,0; 1,5	1,0	1,0	1,5	1,5	2,0
H + Ra < β	2,0	2,0; 1,0	1,75; 1,0	1,0; 2,0	1,0	1,0	1,5
Ra < α	0,5	1,0; 1,5	1,0; 0,5	0,5	0,5	0,5	1,0
Ra < β	0,5	1,5; 1,0	0,5	0,5	1,0	0,5	2,0

[1]) Es ist hier nur die Länge der Tumoren gemessen, die jedoch, da die Infektionsstellen ursprünglich gleiche Größe hatten, ein brauchbares Maß abgeben.

[2]) Sofern nur e i n e Größe angegeben ist, gilt sie für beide Tumoren derselben Pflanze, sind 2 Größen angegeben, so gilt der in der Spalte linksstehende Wert für den unteren, der rechtsstehende für den oberen Tumor der gleichen Pflanze.

In der H + Ra-Reihe, d. h. also bei den mit Hormon gedüngten Pflanzen sind demnach die Tumoren eindeutig größer als in der Ra-Reihe ohne Hormon.

Am 23. 7. 1934 war die niedrigste Tomate 44, die größte 69 cm hoch. Alle Kontrollpflanzen (ohne Hormon und ohne Impfung) mit Ausnahme

derjenigen der Sorte Beste von Allen waren mehr als 50 cm hoch, desgleichen die mit Hormon gedüngten; unter letzteren fand sich auch die höchste, die der Sorte Überreich angehörte.

Es wurde in der Folgezeit noch der Fruchtansatz und die Reifung der Früchte jeder einzelnen Pflanze verfolgt und protokolliert.

Am 15. 8. 1934 wurde der Versuch abgebrochen, die Höhe der Pflanzen und die Größe der Tumoren zu dieser Zeit sind aus Tabelle 3 zu ersehen.

Die Ernteergebnisse an reifen Früchten sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tab. 3. Länge der Tomatenpflanzen und Große der Tumoren am 15. 8. 1934.

Behandlungsart	Tomatensorte							
	Augusta		Beste v. Allen		Bonner Beste		Sieger	
	La[1]	Tu[2]	La	Tu	La	Tu	La	Tu
H < α	67		52		65		65	
H < β	55		47		56		64	
H + Ra < α	52	2,0; 1,5	47	2,5; 2,0	53	2,0	59	2,5
H + Ra < β	52	2,0; 3,0	50	2,5; 1,5	55	2,0; 1,5	55	2,5; 2,0
Ra < α	57	1,0	47	1,5; 2,0	58	2,0; 1,5	62	1,5
Ra < β	54	1,0; 1,5	47	2,0; 1,5	59	1,0	80	1,5
K < α	57		48		55		56	
K < β	53		46		57		53	

[1]) La = Lange der Pflanzen.
[2]) Tu = Tumorgröße.

Behandlungsart	Tomatensorte					
	Überreich		Westlandia		Ailsa Craig	
	La	Tu	La	Tu	La	Tu
H < α	64		55		59	
H < β	84		55		53	
H + Ra < α	50	1,5; 2,5	45	1,5	48	2,5
H + Ra < β	50	1,5; 2,0	56	1,5; 2,0	58	2,5
Ra < α	63	1,0	58	1,0	50	1,5
Ra < β	48	1,0	62	1,0	51	2,0
K < α	64		55		53	
K < β	55		58		—	

Werden die Größen der Pflanzen der verschieden behandelten Serien miteinander verglichen, so fällt zunächst eine mehr oder weniger deutliche Schwankung in der Länge sowohl der gleich wie der verschieden behandelten Pflanzen derselben Sorten auf; es muß aber festgestellt werden, daß die mit Hormon gedüngten und nicht infizierten Pflanzen durchschnittlich höher sind, als die mit Hormon gedüngten und gleichzeitig mit Pseudomonas tumefaciens infizierten Pflanzen; sie sind sogar bis auf die der Sorte Westlandia, wenn die Mittelwerte der beiden Parallelpflanzen zugrunde gelegt werden, größer als die Pflanzen, die nicht mit Hormon gedüngt und auch

nicht infiziert sind. Dem Hormon wäre hier also wenigstens bei 5 der 7 Tomatensorten eine schwache Wachstumsförderung zuzuerkennen. Bei Westlandia und Sieger wäre das nicht der Fall. Die gleichzeitige Impfung mit Pseudomonas tumefaciens hat in den meisten Fällen eine schwache Wuchshemmung hervorgerufen. Die Tumorentwicklung war, wie immer bei Tomaten, nicht stark, durchschnittlich aber bei den hormongedüngten Pflanzen jedoch noch etwas kräftiger als bei den nicht mit Hormon behandelten. Damit ist das Gegenteil von dem eingetreten, was von einem Sexualhormon auf Grund der eingangs ausgeführten Überlegungen hätte erwartet werden können.

Eine Verkürzung des Aufblühtermins durch die Hormondüngung war nicht zu verzeichnen, auch nicht ein früheres Reifen der Früchte. Dagegen war die Gewichtsmenge an reifen Früchten bei den hormongedüngten Pflanzen bis zum 15. 8. 1934 durchschnittlich höher; die letzteren Werte waren aber nicht gesichert (siehe Tabelle 4).

Tab. 4. Zahl und Grammgewicht reifer Früchte bis zum 15. 8. 1934.

Behandlungsart	Tomatensorte												Mittelwert	
	Augusta		Beste von Allen		Bonner Beste		Sieger		Über-reich		West-landia			
	Zahl	Gew.	Zahl	Gew.	Zahl	Gew.	Zahl	Gew.	Zahl	Gew.	Zahl	Gew.	Zahl	Gew.
H < α	3	112	2	79	7	166	3	136	4	124	3	108	4,17	134 ± 25,52
β	5	129	5	168	6	187	3	82	5	197	4	122		
H + Ra < α	4	115	5	157	5	145	3	109	3	92	5	101	4,5	130 ± 28,2
β	4	149	6	207	8	197	4	74	3	87	4	129		
Ra < α	3	103	5	128	6	148	3	115	3	117	2	57	3,42	106 ± 19,37
β	3	94	3	119	6	131	1	47	3	109	3	103		
K < α	3	102	4	115	5	169	3	109	3	117	2	58	3,5	111 ± 18,14
β	3	100	2	90	5	122	4	110	3	98	5	142		

Die unreifen Früchte sind hier außer acht gelassen worden.

Daß die Pflanzen infolge der Topfhaltung nicht so kräftig entwickelt waren und auch viel weniger und kleinere Früchte hervorgebracht hatten als im freien Lande, hat hier, da es sich um Vergleichsversuche handelt, weniger Bedeutung.

Um aber auch die Wirkung des Hormons an Freilandpflanzen zu prüfen, wurden im Jahre 1935 erneut Versuche durchgeführt. Es wurde hier nur eine Tomatensorte und zwar Lukullus verwendet.

Die Hormondüngung erfolgte in anderer Weise als im Vorjahre. Die Pflanzen erhielten wöchentlich in den ersten 3 Wochen je 500 M. E., in den nächsten 3 Wochen je 1000 M. E. und in den letzten 3 Wochen je 1500 M. E. Die konzentrierten Hormonlösungen wurden jeweils mit Nährlösung auf 50 ccm verdünnt und zwar derart, daß der Nährstoffgehalt stets 2‰ betrug. Als Nährstoffgemisch wurde Hakaphos verwendet.

Die Versuche wurden gegenüber dem Vorjahre insofern etwas erweitert, als 2 verschiedene Stämme von Pseudomonas tumefaciens (Stamm Dahlia Ra und Stamm Chrys. frut. II b) für die Impfungen benutzt wurden. Es waren dadurch 6 Versuchsreihen notwendig.

a, b, c, d waren dieselben wie 1934,
e) umfaßte die Reihe derjenigen Pflanzen, die mit Hormon gedungt und mit Pseud tumefaciens Stamm Chrys. frut II b geimpft wurden = H + II b und
f) diejenige Reihe, deren Pflanzen nur mit Stamm Chrys frut II b geimpft wurden = II b

An Stelle der zweifachen wurde diesmal die sechsfache Wiederholung gewahlt.

Dieser Versuch umfaßte also, da nur mit einer Tomatensorte ausgefuhrt, 36 Pflanzen.

Die erste Dungung mit Hormon erfolgte am 13. 5. 1935. Zu dieser Zeit standen die Tomaten noch in Topfen. Die Infektion mit Pseudomonas tumefaciens wurde am 29. 5. durchgefuhrt. 3 Tage spater, also am 1. 6. 1935, erfolgte die Verpflanzung ins Freiland.

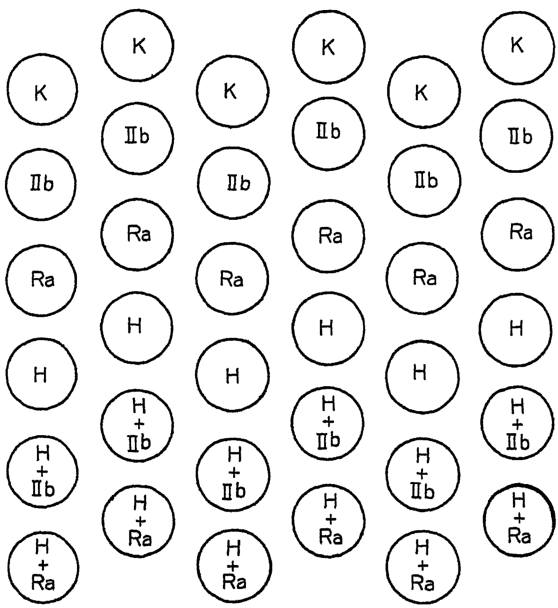


Abb. 1. Erklarung im Text.

Die Anordnung im Freiland ist aus Abb. 1 ersichtlich.

Der Abstand der Pflanzen innerhalb der Reihe betrug 1 m, der Reihenabstand 60 cm. Die Hormondungung im Freiland wurde so vorgenommen, daß jeweils um die Pflanze herum vor der Dungung eine „Baumscheibe“ angelegt wurde, die ursprunglich etwa 15—20 cm, später entsprechend mehr Durchmesser hatte. Etwa 1 Std. vor Zugabe des Hormons wurde der Boden mit Leitungswasser durchfeuchtet. Nach Verteilung der Hormonlosung uber die „Baumscheibe“ wurde, sobald die Flüssigkeit vollkommen eingezogen war, nochmals mit Leitungswasser gegossen.

Von dem Durcheinanderpflanzen der mit Hormon zu behandelnden und nicht zu behandelnden Tomatenpflanzen wurde aus begreiflichen Gründen bewußt abgesehen.

Am 15. 6. 1935 ließen alle Infektionsstellen den Beginn der Tumorbildung erkennen.

Die Pflanzen entwickelten sich im Freiland ausgezeichnet (siehe Abb. 2). Ihre Längenmaße, die alle 8 Tage protokolliert wurden, sind zusammen mit den Tumorgrößen[1]) vom 25. 6. und 20. 8. in der Tabelle 5 zusammengestellt.

Es zeigt sich demnach am 25. 6. im Wuchs der hormongedüngten und nicht infizierten Pflanzen gegenüber den Kontrollpflanzen eine geringe Über-

[1]) In Anbetracht der starkeren Entwicklung der Freilandpflanzen waren im Jahre 1935 von den Tumoren zunachst Lange und Breite, spater Lange, Breite und Hohe gemessen worden.

legenheit. im ersteren Falle erreicht der Mittelwert der Längen 70 cm, bei den nicht mit Hormon gedüngten Pflanzen, also den Kontrollen, nur 63 cm. Die Größen der unteren Tumoren derselben Pflanze liegen zu dieser Zeit im allgemeinen höher als die der oberen. Ein eindeutiger Unterschied in der Größe bei den hormonbehandelten und den nicht mit Hormon gedüngten Pflanzen ist zu dieser Zeit nicht feststellbar.

Das Ausgeizen begann am 25. 6. 1935. Die Zahl der Geiztriebe, die allwochentlich entfernt wurden, ist stets genau notiert worden. Sie betrug z. B. in der Zeit vom 25. 6.—23. 7. 1935

bei den Kontrollpflanzen: 30, 27, —, 30, 26, 27,

bei den Hormon-gedüngten Pflanzen: 29, 29, 30, 30, 24, 27.

Ein früheres Aufblühen der Hormon-Pflanzen war nicht festzustellen.



Abb. 2. Hormonversuch mit Tomaten. Pflanzen teilweise mit Pseud. tumefaciens Stamm Dahlia Ra bzw. Stamm Chrys. frut. II b infiziert am 29. 5. 1935. Tomaten ins Freiland gepflanzt am 1. 6. 1935. Aufgenommen am 24. 8 1935.

Früchte waren angesetzt:

bei den Kontrollpflanzen

am 25. 6.: 2, 2, 3, 4, 3, 0,

am 2. 7.: 14, 18, 14, 16, 11, 11,

bei den Hormonpflanzen

am 25. 6.: 3, 5, 3, 2, 1, 1,

am 2. 7.: 10, 14, 11, 11, 14, 9.

An ersten reifen Früchten wurde geerntet am 6. 8.

von den Kontrollpflanzen: 1, 2, 3, 2, 2, 0,

von den Hormon-gedüngten Pflanzen: 3, 0, 2, 0, 1, 1.

Der Versuch wurde abgebrochen am 16. 10. 1935. Die Pflanzen wurden gleichmäßig etwa 2 cm über dem Erdboden abgeschnitten. Nach dem Ab-

Tab. 5. Großenmaße der Tomatenpflanzen

Parallel-pflanze	Pflanzenlange											
	K		II b		Ra		H		H + II b		H + Ra	
	25./6.	23./7.	25./6.	23./7.	25./6.	23./7.	25./6.	23./7.	25./6.	23./7.	25./6.	23./7.
1	63	128	65	122	61	120	67	117	61	102	60	98
2	64	127	70	125	72	129	74	130	64	103	66	117
3	64[1])	65	67[1])	95	64[1])	105	74	130	75	131	67	127
4	62	128	69	115	70	125	69	125	72	126	71	135
5	60	125	68	135	70	140	62	125	65	105	61	102
6	65	112	67	118	76	128	75	130	74	128	73	102

[1]) Pflanzen waren am 25. 6. 1935 in der angegebenen Hohe leider abgebrochen.

nehmen sämtlicher unreifer Früchte wurden jeweils diese und die Pflanzen getrennt gewogen.

Die endgültigen Tumorgrößen sind in Tabelle 6 eingetragen.

Tabelle 6.

Behandlungsart		Erreichte Tumorgroße (Länge: Broite: Hohe) an Tomaten in sechs Parallelen						Mittel-werte
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	
II b <	unten	3,0: 3,5: 1,5	3,0: 2,8: 1,4	2,5: 3,7: 1,7	3,0: 3,0: 1,5	3,0: 3,0: 1,5	3,7: 3,7: 2,0	3,0: 3,3: 1,6
	oben	2,5: 2,0: 1,0	3,0: 2,9: 1,5	3,5: 3,0: 2,0	2,0: 2,5: 1,5	3,0: 4,0: 2,0	2,7: 2,3: 1,0	2,6: 2,6: 1,6
Ra <	unten	2,5: 3,0: 0,8	2,0: 1,9: 0,5	2,5: 3,5: 1,0	2,5: 4,0: 1,0	3,0: 3,5: 1,0	2,8: 2,8: 1,0	2,7: 3,1: 0,9
	oben	2,5: 2,0: 1,0	2,0: 3,0: 1,0	1,5: 1,3: 0,7	2,0: 1,5: 1,2	2,0: 3,0: 1,5	2,2: 2,5: 1,5	2,0: 2,2: 1,2
H+IIb <	unten	2,4: 2,5: 1,0	3,0: 4,0: 1,5	2,5: 2,0: 1,5	3,0: 3,5: 1,0	3,0: 4,5: 2,0	3,0: 4,2: 1,0	2,8: 3,5: 1,3
	oben	2,0: 2,2: 1,1	3,5: 2,5: 1,5	3,0: 3,0: 1,5	3,0: 2,9: 2,0	3,0: 2,4: 1,3	3,0: 3,0: 1,8	2,9: 2,7: 1,6
H + Ra <	unten	1,0: 1,5: 1,0	3,0: 1,9: 0,5	2,0: 1,5: 0,2	2,5: 2,0: 1,0	2,0: 2,0: 0,9	3,0: 3,0: 1,0	2,3: 2,0: 0,8
	oben	1,8: 2,0: 0,8	1,5: 2,0: 2,0	1,5: 1,3: 1,8	2,5: 2,5: 1,3	1,5: 1,5: 0,6	3,5: 3,0: 1,2	2,1: 2,1: 1,3

Während bei den Topfversuchen des Vorjahres die Tumoren der Hormongedüngten Pflanzen durchschnittlich größer waren als die der nicht mit Hormon behandelten Pflanzen, trifft das bei den Freilandpflanzen von 1935 nicht zu. Es ist hier eine ganz unbedeutende Hemmung der Tumorentwicklung bei den mit Hormon gedüngten und infizierten Pflanzen gegenüber den unbehandelten und infizierten zu erkennen, die nicht zu der Annahme berechtigt, daß das Hormon hier seine spezifische Wirkung ausgeübt hätte. Wäre sie wirklich spezifisch, so hätte sie sich bei den vorjährigen Topfver-

und ihrer Tumoren in Zentimeter.

Tumorengroße							
II		Ra		H + II b		H + Ra	
25./6.	23./7.	25./6.	23./7.	25./6.	23./7.	25./6.	23./7.
1,4: 1,0[1]) 1,0: 0,7[1])	3,0: 3,3: 1,2 1,6: 2,0: 0,8	1,2: 1,1 1,0: 0,6	2,5: 3,0: 0,5 2,2: 1,9: 0,8	1,4: 1,0 0,8: 0,5	2,0: 1,9: 1,0 1,5: 1,5: 0,7	1,3: 1,0 1,3: 1,0	1,0: 1,5: 1,0 1,6: 1,6: 0,7
1,2: 0,6 1,2: 0,7	2,6: 2,4: 1,0 2,0: 2,0: 1,3	1,4: 1,1 1,0: 0,7	2,0: 1,9: 0,5 1,8: 2,3: 1,0	1,0: 1,0 1,0: 0,5	2,7: 3,5: 1,2 2,5: 2,7: 1,3	1,0: 0,6 1,3: 0,7	3,0: 1,9: 0,5 1,5: 2,0: 2,0
1,0: 1,1 1,0: 0,5	2,5: 3,2: 1,5 2,0: 2,6: 1,0	1,2: 1,0 0,8: 0,5	2,5: 3,5: 1,0 1,5: 1,3: 0,7	1,1: 1,0 1,0: 0,7	2,5: 2,0: 1,5 2,0: 1,6: 1,0	1,2: 0,7 0,9: 0,5	2,0: 1,5: 0,2 1,5: 1,3: 1,5
1,2: 1,0 1,0: 0,5	2,2: 2,9: 1,0 1,9: 1,7: 1,1	1,3: 1,3 0,8: 0,8	2,5: 4,0: 1,0 1,8: 1,6: 0,9	1,5: 1,0 1,0: 0,8	3,0: 3,5: 1,0 2,5: 2,5: 1,5	1,2: 1,1 0,7: 0,6	2,5: 2,0: 1,0 2,5: 2,0: 1,0
1,5: 1,1 1,0: 1,0	3,0: 3,0: 1,5 2,0: 2,8: 1,5	1,2: 1,4 0,9: 0,8	3,0: 3,5: 1,0 2,0: 2,0: 1,0	1,5: 1,5 1,5: 0,4	3,0: 4,3: 2,0 2,2: 1,6: 0,7	1,3: 0,7 0,9: 0,5	2,0: 2,0: 0,9 1,2: 1,5: 0,5
1,5: 1,3 1,0: 0,7	3,7: 3,7: 2,0 2,0: 1,7: 0,8	1,2: 1,1 0,5: 0,6	2,8: 2,8: 1,0 1,7: 2,0: 1,0	1,0: 0,9 1,2: 0,6	3,0: 4,2: 1,0 2,2: 2,2: 1,0	1,0: 0,8 0,8: 0,5	3,0: 3,0: 1,0 2,2: 2,5: 0,5

[1]) Obere Zahl Tumorgroße des unteren Tumors; untere Zahl Tumorgroße des oberen Tumors, und zwar Lange: Breite: (Hohe).

suchen eindeutiger auswirken müssen, da hier das Hormon vollkommener hätte aufgenommen werden können als im Freiland.

Die erreichten Pflanzenhöhen, die Zahl der reifen Früchte und ihr Gesamtgewicht bis zum 16. 10. 1935, ferner das Gewicht der noch grünen Früchte sowie der Pflanzenmasse sind ebenfalls tabellarisch zusammengestellt (Tab. 7).

Da, wie bereits erwähnt, von den 3 der in Spalte 3 aufgeführten Pflanzen schon frühzeitig die Spitzen abgebrochen waren und sich 2 dieser Pflanzen fast gar nicht oder doch nur unvollkommen von diesem Schaden erholt haben, wird bei der Auswertung der Ergebnisse zweckmäßigerweise die Spalte der 3. Parallele ganz außer Betracht gelassen.

Es zeigt sich demnach auch bei diesen Versuchen, daß die größte Pflanze (2,35 m) sich unter den Hormon-gedüngten befindet und sofern die Mittelwerte zugrunde gelegt werden, bei den Hormon-gedüngten eine Durchschnittslänge von 2,02 m, bei den Kontrollpflanzen eine solche von nur 1,65 m sich ergibt. Es ist also die Tendenz, nach Aufnahme des Hormons stärker in die Länge zu wachsen, bei den Tomaten in beiden Jahren unverkennbar. Zahl und Gewicht der reifen Früchte liegen bei den Kontrollen aber etwas höher als bei den Hormon-Pflanzen: 44 und 3202 : 43 und 2987. Werden reife und unreife Früchte zusammengerechnet, so ergibt sich für die Kontrollen ein Mittelwert von 4017, für die Hormonpflanzen ein solcher von 3965, werden auch die Krautgewichte hinzugerechnet, so verschieben sich die Mittelwerte zugunsten der Hormonpflanzen 4673 : 4811.

Werden aber die mittleren Fehler der Mittelwerte berechnet, so ergibt sich eindeutig, daß keiner dieser 1935 erhaltenen Werte gesichert ist (siehe Tabelle 8).

Die mit Pseudomonas tumefaciens geimpften Pflanzen zeigen eine Depression in der Größe und im Erntegewicht sowohl der reifen als auch der grünen Früchte.

Tab. 7. Stand des Hormonversuches am 16. 10. 1935.

Hormonversuch mit Tomatenpflanzen		Behandlungsart	Parallelen 1.	2.	3.	4.	5.	6.
Pflanzenlänge in cm		K	190	197	67[1]	198	179	193
		II b	157	195	145[1]	173	178	124
		Ra	182	178	200[1]	190	200	157
		H	163	235	195	195	200	216
		H + II b	170	172	150	172	147	185
		H + Ra	188	173	188	181	130	145
Reife Früchte	Gesamtzahl	K	44	48	18	43	45	42
		II b	40	36	30	33	43	41
		Ra	39	47	32	46	41	44
		H	41	42	41	47	46	41
		H + II b	31	35	45	44	39	42
		H + Ra	24	37	43	41	28	26
	Gesamtgewicht in g	K	3281	3462	1077	3120	3255	2894
		II b	2329	2562	1779	2178	2850	1855
		Ra	3278	3370	2346	2976	3044	2744
		H	2697	3031	3157	3026	2945	3234
		H + II b	2018	2214	2290	2344	2205	3120
		H + Ra	1358	2254	2537	2767	1415	1382
Gewicht der grünen Früchte in g		K	709	748	11	575	814	1225
		II b	259	635	335	581	705	92
		Ra	989	427	637	670	915	495
		H	565	1560	600	725	647	1395
		H + II b	453	415	283	410	308	746
		H + Ra	849	925	837	855	348	314
Staudengewicht in g		K	559	615	430	740	730	640
		II b	385	660	390	610	640	220
		Ra	775	780	710	630	890	720
		H	529	1090	860	750	720	1140
		H + II b	300	360	400	520	350	750
		H + Ra	525	470	660	700	220	250

[1]) Pflanzen abgebrochen, als sie etwa 65 cm hoch waren.

Tab. 8. Mittelwerte aus Tabelle 7.

Behandlungsart	Pflanzenlänge	Gewicht der reifen Früchte	Gewicht der reifen u. unreifen Früchte	Gesamtfrucht- u. Krautgewicht
K	191 ± 5,10	3202 ± 140,74	4017 ± 131,14	4673 ± 114,70
II b	165 ± 17,88	2355 ± 251,24	2809 ± 408,44	3312 ± 527,66
Ra	181 ± 10,69	3082 ± 166,09	3782 ± 253,88	4541 ± 289,84
H	202 ± 17,82	2987 ± 129,24	3965 ± 409,86	4811 ± 583,10
H + II b	169 ± 9,18	2380 ± 284,38	2847 ± 386,94	3303 ± 505,54
H + Ra	163 ± 16,54	1835 ± 428,60	2493 ± 576,88	2926 ± 696,00

Als meine Versuche fast abgeschlossen waren, erschien eine kurze Mitteilung von L. Havas „Follicular (Oestrus) Hormone and Plant Tumours" (in „Nature", Vol. 136. 28. Sept. 1935. p. 516), worin Verfasser über Versuche mit Tomatenpflanzen berichtet, die mit wäßrigen Lösungen von kristallisierten Oestrus-Hormonen, und zwar dem „Glandubolin" Richter und dem „Hogival" von Chinoin, behandelt und dann mit Pseudomonas tumefaciens geimpft worden waren.

In der Zeit vom 8.—21. Juni 1935 waren durchschnittlich von jeder Pflanze 434,3 M.E. aufgenommen worden. Die Aufnahme war durch den Stumpf eines Blattstieles erfolgt. 31 Pflanzen waren in dieser Weise behandelt und 31 als Kontrollen aufgestellt. Alle waren jeweils einmal ober- und unterhalb des Blattstielstumpfes mit Pseudomonas tumefaciens geimpft worden, aber 21 der Kontrollen erhielten an Stelle des Hormons destilliertes Wasser und 10 deproteinisierten hormonfreien tierischen Fleischextrakt. Die Einverleibung der Lösungen geschah in allen Fällen durch den Blattstiel.

Bei den ersten Zeichen einer Nekrose wurden die Tumoren abgeschnitten und gewogen. Die Durchschnittsgewichte der Tumoren (Einzelgewichte, aus denen die Abweichungen erkennbar wären, sind nicht angegeben) betrugen:

	oberhalb des Blattstielstumpfes g	unterhalb des Blattstielstumpfes g
Bei den Hormonpflanzen	0,554	0,303
Bei den Kontrollpflanzen		
Mit destilliertem Wasser	0,452	0,427
Mit Spezialextrakt	0,407	0,423

Aus früheren Beobachtungen über die Wirkung tierischer Hormone auf Pflanzen, deren Ergebnisse zeitlich noch später (Dezember 1935) veröffentlicht wurden[1]), schließt Havas, daß die östrogenen Stoffe nur oberhalb der Einverleibungsstellen wirksam werden. Aus den Tumefaciens-Versuchen wäre, weil die oberhalb des Blattstielstumpfes liegenden Tumoren um 80% größer sind als die unterhalb liegenden, demnach weiter zu folgern, daß eine Förderung der Tumorentwicklung durch das Hormon vorliegt. Doch hält Havas weitere Versuche für notwendig, ehe eine endgültige Interpretation erfolgen könne. Das scheint auch deswegen nötig, weil die untersten Tumoren der hormonbehandelten Pflanzen kleiner sind als die der Kontrollpflanzen und, sofern die Größen der beiden Tumoren derselben Pflanze jeweils addiert werden, überhaupt keine Unterschiede zwischen den Hormon-Pflanzen und den Kontrollen mehr bestehen.

Zusammenfassung.

Es wurde in zweijährigen Versuchen an Tomaten geprüft, ob östrogene Stoffe tierischer Herkunft die gleichen spezifischen Wirkungen in den Pflanzen haben, wie sie ihnen im tierischen und menschlichen Körper zugesprochen werden.

Nachdem in früheren Versuchen gezeigt worden war, daß zwischen vegetativem Wachstum resp. Blühen und Fruchten der Wirtspflanze einerseits und der durch Pseudomonas tumefaciens bedingten Tumorentwicklung andererseits deutliche Korrelationen bestehen, hätten sich solche Beziehungen auch bei mit Follikel-Hormon gedüngten Pflanzen, von denen ein Teil mit Pseudomonas tumefaciens geimpft war, zeigen müssen. Die Tumoren der hormongedüngten Pflanzen hätten deutlich kleiner bleiben müssen als die der nicht hormongedüngten. Bei den Topfversuchen 1934 war jedoch das Gegenteil der Fall. Die Tumoren der mit Hormon gedüngten Pflanzen waren größer als die der nicht mit Hormon behandelten. Bei den Freilandversuchen des Jahres 1935 waren die Tumoren der

[1]) Havas, L., and Caldwell, J., Some experiments on the effects of animal hormones on plants. (Annals of Bot. Vol. 49. 1935. p. 729—747.)

Hormonpflanzen im Mittelwert zwar etwas kleiner. die Schwankungen aber derart groß. daß diese Werte nicht als gesichert angesehen werden können. Da die hormonbehandelten. nicht infizierten Pflanzen nicht früher blühten, jedoch in beiden Jahren die Tendenz stärkeren Längenwachstums zeigten, kann das negative Ergebnis bezüglich der Tumoren nicht verwundern.

Herrn Professor Dr. Schoeller sei an dieser Stelle für die liebenswürdige Überlassung des T. S.-Hormons nochmals verbindlichst gedankt.

Die Hitzewiderstandsfähigkeit der Colibakterien und die Verwendbarkeit dieser Eigenschaft als Vergleichsmaßstab für die Beurteilung von Milcherhitzern.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Preuß. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel.
Stellvertr. Leiter: Prof. Dr. M. Seelemann.]

Von **Andr. Lembke.**

Mit 1 Abbildung im Text.

A. Einleitung und Literaturübersicht.

In der Biologie ist die Frage nach der Lebensmöglichkeit der Organismen bei höherer Temperatur von besonderem Interesse. Während normalerweise das Leben an enge Temperaturgrenzen gebunden ist, gibt es unter den Bakterien viele Arten, die gegen Hitzeeinwirkung außerordentlich widerstandsfähig sind. Diese Eigenschaft beruht auf der Bildung sog. Sporen.

Im Gegensatz zur Spore ist die vegetative Bakterienzelle erheblich empfindlicher gegen höhere Temperaturen. So werden durchweg die in der Milch vorkommenden pathogenen Arten durch das Verfahren der Dauererhitzung (63° C 30 Min.) vernichtet, wie aus der Arbeit von H. Zeller, W. Wedemann, L. Lange und E. Gildemeister (15). Über die sog. niedrige Dauerpasteurisierung der Milch mit besonderer Berücksichtigung der Abtötung von Seuchenerregern, hervorgeht. Obige Autoren haben die gesamte einschlägige Literatur — auch des Auslandes — berücksichtigt. Die Amerikaner halten, wie Rahn (10) mitteilt, eine Dauerpasteurisierung 30 Min. bei 61,2° C als unterste Grenze für hinreichend, da die Abtötungstemperaturen der Tuberkelbakterien bei 59° C liegen sollen. Das widerspricht allerdings den Angaben van der Sluis' (13), der zu dem Ergebnis kommt, daß es notwendig ist, die in natürlicher Weise mit Tuberkelbakterien beimpfte Milch einer Erwärmung auf 80° C während 1 Std. mit einer Vorwärmung von ½ Std. zu unterwerfen, wenn man mit Sicherheit eine von Tuberkelbakterien freie Milch erhalten will. de Jong (6) fand, daß die Bazillen der natürlich tuberkulösen Milch einer Temperatur von 71—72° C während ½ Std. bei einer Vorwärmung von wenigstens derselben Zeit widerstehen. de Jong und de Graaff (7) stellten weiter fest, daß Colibakterien weit höhere Temperaturen vertragen, als man vorher anzunehmen geneigt war. Es liegen weiter Beobachtungen darüber vor, wie aus der Arbeit von Plock und Seelemann (9) hervorgeht, daß bisweilen Abortus Bang-Bakterien die Hocherhitzung überleben. Zavagli (14) fand, daß sich einzelne Colistämme gegen Hitze verschieden verhielten. Nicht nur Formen, die an und für sich hitzebeständig waren, überlebten die Dauererhitzung, sondern auch normal hitzebeständige Stämme konnten diese Eigenschaft unter besonderen Begleitumständen erlangen. Peters (8) nimmt an, daß im Verlaufe der Dauererhitzung die Abtötung des Bact. coli stufenweise im Sinne einer Auslese der wärmebeständigen Varietäten erfolgt. Im Vergleich zu anderen Milchkeimen sollen viele Varietäten des Bact. coli eine ausgesprochene Hitzeresistenz

besitzen. Beavens (3) konnte nachweisen, daß bei 32°$_0$ dauererhitzter Milchproben Colibakterien die Erhitzung überlebten. Es gelang ihm, durch Gewohnung aus Stammen, deren meiste Angehörige bei 63° C in 30 Min. abgetotet wurden, Organismen heranzuzüchten, die erst bei einer Einwirkung von 64,6° C wahrend 30 Min. restlos vernichtet wurden. Mit steigendem Zuckergehalt der Nahrlosung (1—20%) konnte ein Ansteigen der Hitzeresistenz beobachtet werden. Eijkmann (4) führte Untersuchungen an Bact. coli durch und stellte dabei fest, daß die Bakterien sogar ein und derselben Reinkultur große individuelle Unterschiede in bezug auf Lebensfrische und Vermehrungs- sowie Widerstandsfahigkeit gegenuber schadlichen Einflüssen zeigen.

Verf. fand, daß die erste Hälfte der Keime immer abgestorben war in viel weniger als der Hälfte der Zeit, die für die Abtötung aller Keime erforderlich war. Noch sehr lange nach erfolgter schädlicher Einwirkung der Hitze entwickelten sich einige „Nachzügler", was nicht nur den Verlauf der Abtotungskurve beeinflußt, sondern auch praktisch von Bedeutung ist. Es wird ein Beispiel angefuhrt, wo nach 3tägiger Bebrütung schon bei 5 Min. langer Einwirkung von 52° C keine lebenden Keime zu erkennen waren, während nach 15 Tagen auf der Gelatineplatte sogar bei 35 Min. langer Einwirkung noch einzelne Keime zur Entwicklung kamen. Die Abtötungsdauer würde durch Vernachlassigung der „Nachzügler" von 35 auf 5 Min. erniedrigt sein.

Bei Untersuchungen uber die Wärmetotungsgrenze eines Mikrokokkus kamen Russel und Hastings (11) zu dem bemerkenswerten Ergebnis, daß die Wärmetötungspunkte der einzelnen Zellen verschieden sind. Wenngleich die Temperatur von 62,8° C bei 30 Min. Einwirkungsdauer durchweg die in der Milch vorhandenen Colibakterien abtötet, wie S. Henry Ayers und W. T. Johnson (1) feststellten, können nach Angabe der gleichen Autoren, wie beispielsweise am Bact. aerogenes beobachtet wurde, einzelne Zellen Hitzegrade aushalten, die auf die Mehrzahl der Zellen unbedingt eine tödliche Wirkung haben.

Um zu sehen, wie sich die einzelnen Zellen gegenüber hoheren Temperaturen verhalten, genügt nicht ein qualitativer Nachweis derselben, es muß vielmehr die Abnahme der Zahl der lebenden Zellen nach der Zeit verfolgt werden. Diese Tatsache war bereits verschiedenen älteren Forschern bekannt. Man erkannte, daß das Absterben der Bakterien ein Zeitvorgang ist, der schon mit dem Überschreiten der jeweiligen Maximaltemperatur in sonst günstigem Medium einsetzt und mit zunehmender Temperatur immer rascher abläuft, analog den monomolekularen chemischen Reaktionen, wie sich W. Sattler (12) in seiner Arbeit: „Absterbegeschwindigkeit, Wärmebeschleunigung und Resistenzwechselpunkt einiger wichtiger Bakterien", ausdrückt. Sattler bestätigt, daß eine Berechnung der Absterbegeschwindigkeit der Bakterien und ihre Wärmebeschleunigung nach den für monomolekulären chemischen Reaktionen gültigen Gleichungen möglich ist. Mit zunehmender Dauer der Hitzeeinwirkung geht die Absterbegeschwindigkeitskonstante allerdings bei den meisten von Sattler untersuchten Bakterien zurück. Die von Sattler berechneten Werte für die Absterbe-Geschwindigkeitskonstante K zeigen z. T. sehr starke Abweichungen von dem berechneten Durchschnitts-K-Wert, so daß die Berechtigung zur Angabe von Durchschnittswerten zweifelhaft erscheint. Die angewandte Versuchsmethodik scheint hieran — jedenfalls teilweise — schuld zu sein. Sattler führte seine Versuche unter Laboratoriumsverhältnissen durch; Abtötungsversuche an Apparaten in der Praxis fehlen.

Honneberg (5) kommt in einer neueren Arbeit zu dem Ergebnis, daß hitzeresistente Colibakterien in Milch nicht häufig vorkommen. Durch Zuchtung in Roggenschrot-Abkochungen gelang es Verf., die Resistenz in vielen Fällen zu erhöhen. Bartram (2) fand in 2 von 30 Milchproben eine kleine Zahl von resistenten Colibakterien. Anders verhielt es sich mit Colibakterien, die aus Tümpelwasser isoliert wurden. Unter diesen waren resistente Stämme in größerer Zahl vorhanden.

Die vorliegenden älteren Arbeiten, die sich mit dem Problem der Hitzewiderstandsfähigkeit der Bakterien befassen, lassen verschiedene Fragen ungeklärt. So z. B. erfährt man nichts darüber, ob die Abtötung des Bact. coli durch ein Erhitzungsverfahren etwas aussagt über die Wirkungsweise des gleichen Verfahrens gegenüber saprophytischen und pathogenen Keimen. Dies ist von großer Wichtigkeit, da die „Richtlinien für die Prüfung von Milcherhitzungsapparaten mit dem Ziel der Zulassung als Erhitzungsapparate für die Hoch-, Kurzzeit- und Dauererhitzung" (16) die Hitzefestigkeit gewisser Colibakterien, die als sog. Testbakterien zur Versuchsmilch hinzugegeben werden, geradezu als Bezugsbasis fordern. Hierbei

wird also vorausgesetzt, daß die Hitzewiderstandsfähigkeit der Colitestbakterien eine konstante Eigenschaft darstellt.

Bei der Prüfung von Milcherhitzungsapparaten nach den vorstehend zitierten „Richtlinien“ ließ sich öfters eine Übereinstimmung der nach dem Verfahren der Dauererhitzung ermittelten Resistenz der Testbakterien der Versuchsmilch mit der Wirkungsweise des Apparates nicht feststellen. Bisweilen erfolgte trotz höherer Resistenz (geprüft nach dem Verfahren der Dauererhitzung) eine sehr weitgehende Abtötung der Colibakterien durch den zu prüfenden Apparat, dann wieder bewirkte der zu prüfende Apparat trotz geringerer Resistenz des zum Impfen benutzten Colistammes eine unbefriedigende Verminderung desselben. Es war also zu klären, ob die Resistenz der Colibakterien tatsächlich, wie von den „Richtlinien“ gefordert wird, eine konstante Eigenschaft darstellt und mit zur Grundlage einer Beurteilung von Erhitzungsapparaten gemacht werden kann.

B. Eigene Untersuchungen.

I.

1. Methoden zur Bestimmung der Hitzewiderstandsfähigkeit der Bakterien.

Zunächst wurde geklärt, inwieweit Umweltsbedingungen die Hitzeresistenz der auf übliche Weise reingezüchteten Stämme beeinflussen. Geprüft wurde die Abhängigkeit der Resistenz von der Zusammensetzung des Nährmediums, der Wachstumstemperatur und der Kultivierungsdauer bei der Vorzüchtung. Zunächst sei die angewandte Methodik zur Feststellung der Resistenz näher erläutert.

Methodik.

Verfahren I. Gleiche Mengen einer Aufschwemmung von Colikeimen, die auf ihre Resistenz geprüft werden sollten, wurden in dünnwandige, 5 ccm fassende Ampullen mit einer kapillar ausgezogenen Pipette eingefüllt. Die Ampullen wurden zugeschmolzen und alle gleichzeitig in ein großes Wasserbad (50 l) hineingebracht. Für die Aufnahme der Ampullen war eine besondere Vorrichtung vorhanden, die gleichzeitig als Rührer diente. Das Wasserbad wurde zwecks Isolierung mit einem dicken Filzmantel umgeben. Die Konstanthaltung der Badtemperatur wurde durch einen automatischen Quecksilberregler, der mit einer Gasflamme gekuppelt war, besorgt. Die Wasseroberfläche des Bades war durch eine ca. $1\frac{1}{2}$ cm dicke Schicht von Paraffinum liqu. vor Wärmeverlusten einigermaßen geschützt.

Verfahren II. Es wurde ein zweiter Resistenzprüfer gebaut, der mehrere Probenahmen aus ein und demselben Erhitzergefäß während der Resistenzprüfung gestattete. Ein weiterer Vorteil dieses Apparates bestand darin, daß die Impfmilch in außergewöhnlich kurzer Zeit auf die gewünschte Temperatur gebracht werden konnte. Dieses geschah dadurch, daß das Prüfungsmedium (z. B. Milch) in einer Menge von 100 ccm auf die betreffende Erhitzungstemperatur vorgewärmt und mit einer relativ geringen Menge des vorgezüchteten Stammes beschickt wurde. Eine Rührvorrichtung sorgte für einen sehr schnellen Temperatur-Ausgleich. Durch ein geeichtes Thermometer konnte dieser Vorgang kontrolliert werden. Fünf solcher Erhitzungsgefäße waren in einem mit Rührwerk versehenen Wasserbad angeordnet. Die Beheizung des Bades erfolgte durch 2 Heizscheiden, die sich zu beiden Seiten der Erhitzungsgefäße befanden; ein vorgeschalteter Widerstand erlaubte eine Temperaturregelung auf $\pm$ 0,05° C. Die Probenahme aus dem Erhitzungsgefäß erfolgte mittels 1-ccm-Pipetten durch eine im Deckel angebrachte verschließbare Öffnung. Durch Aufnahme der Probe mittels Pipetten wurde gleichzeitig eine schnelle Abkühlung der entnommenen Flüssigkeitsmengen erzielt.

Die weitere Verarbeitung der Proben erfolgte entweder durch Anreicherung der überlebenden Keime in Galle bzw. Galle-Gentianaviolett nach Keßler und Swenarton und nachfolgendem Ausstrich auf Endoagar oder durch Bestimmung der Keimzahl nach dem Verdünnungsverfahren.

2. Die physiologischen und morphologischen Merkmale der für die Untersuchungen benutzten Colistämme.

Für die Durchführung der Versuche wurden insgesamt 10 Colistämme herangezogen, die aus Milch, Wasser und Fäkalien isoliert worden waren. Die wichtigsten physiologischen Leistungen der einzelnen Stämme sind den Tab. 1 und 2 zu entnehmen.

Tabelle 1.

	Coli									
	B	C	D	E	E_1	F	41	42	43	44
Gelatinestich (Verflüssigung)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nitratbouillon	red.	red.	red.	red.	red.	red.	red.	red.	red.	red.
Gramfärbung	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Methylrotreaktion	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indolreaktion	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Voges-Proskauer	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 2.

Stamm	Stärke	Dextrin	Glykogen	Raffinose	Saccharose	Maltose	Laktose	Dextrose
B	0	0	0	0	0,58	0,64	0,72	0,90
C	0	0	0	0,11	0,58	0,72	0,78	0,96
D	0,15	0,13	0,16	0,20	0,67	0,78	0,78	0,94
E	0	0	0	0	0,57	0,67	0,82	0,95
E_1	0	0	0	0	0,49	0,62	0,72	0,90
F	0	0	0,16	0,16	0,59	0,70	0,78	0,98
41	0	0,28	0	0,20	0,57	0,65	0,73	1,05
42	0	0	0	0	0,63	0,73	0,74	1,00
43	0	0	0	0,32	0,49	0,65	0,70	0,97
44	0,15	0,38	0,15	0,19	0,66	0,69	0,80	1,04

Stamm	Laevulose	Mannit	Rhamnose	Arabinose	Sorbit	Salicin	Glyzerin	Keimzahl
B	0,80	0,72	0,27	0,60	0,50	0,63	0	$33 \cdot 10^8$
C	0,90	0,67	0,60	0,93	0,62	0,50	0	$134 \cdot 10^8$
D	0,90	0,80	0,35	0,90	0,74	0,67	0,19	$363 \cdot 10^8$
E	0,88	0,72	0,27	0,67	0,60	0,66	0,11	$298 \cdot 10^8$
E_1	0,75	0,61	0,30	0,59	0,50	0,58	0	$332 \cdot 10^8$
F	0,90	0,72	0,32	0,64	0,60	0,65	0,16	$246 \cdot 10^8$
41	0,84	0,70	0,51	0,86	0,65	0,64	0,25	$206 \cdot 10^8$
42	0,95	0,75	0,56	0,76	0,65	0,62	0,17	$115 \cdot 10^8$
43	0,90	0,80	0,51	0,81	0,64	0,62	0,13	$72 \cdot 10^8$
44	0,93	0,76	0,65	0,81	0,78	0,62	0,20	$89 \cdot 10^8$

Ansatz: 2 ccm einer 1proz. Lösung des jeweils geprüften Kohlehydrats bzw. Alkohols,
1 ccm der Bakterien-Abschwemmung,
0,5 ccm m/15 Phosphatgemisch $p_H = 7{,}01$.
Auswertung der Ansätze durch Titration mit n/10 NaOH nach 20 Std. bei 37° C. Der Laugenverbrauch angesetzter Kontrollen ohne Zucker wurde bereits in Abzug gebracht. Die benutzten Stämme wurden sämtlich 24 Std. auf Milchzuckerbouillon-Agar vorgezüchtet.

Wie aus den Tabellen hervorgeht, waren die Stämme 41—44 nicht zur Indolbildung befähigt. Die Reaktion nach Voges-Proskauer lieferte für alle Stämme negative Ergebnisse, während die Methylrotreaktion für alle Proben positiv ausfiel. Größere Unterschiede in bezug auf die Vergärbarkeit verschiedener Kohlehydrate und Alkohole sind nur für die Stämme D und 44 festzustellen, die eine geringe Hydrolyse von Stärke, Dextrin und Glykogen bewirken. Raffinose wird von Coli C, D, F, 41, 43 und 44 gesäuert. Im übrigen lassen die Stämme keine großeren Abweichungen erkennen.

Die für die Versuche herangezogenen Stämme verhielten sich morphologisch alle sehr ähnlich. Als junge Milchzuckerbouillon-Agar-Kulturen zeigten sie im Klatschpräparat normale Kurzstäbchen und bildeten auf Endo-Agar sämtlich metallisch glänzende Kolonien. Nach unmittelbar überstandener längerer Erhitzung ließen die Kolonien nicht den typischen Metallglanz erkennen. Wie durch Mikroskopieren solcher Kolonien festgestellt wurde, bestanden diese z. T. aus längeren, fädigen Zellen oder sogar aus eigentümlichen, keulig geschwollenen Involutionsformen. Daneben fanden sich vielfach rundliche Formen. Bei Abimpfung in sterile Milch oder auf Agar wurden meist schon nach einigen Passagen normal aussehende Zellen erhalten, während die Kolonien erst nach längerer Zeit auf Endo-Agar wieder den Metallglanz zeigten. Das Vermögen, Milch zu säuern, war bei den einzelnen Stämmen, nachdem diese eine längere Erhitzung überstanden hatten, anfangs in viel geringerem Maße ausgebildet als bei unerhitzten Kulturen. Nach 10—20 Überimpfungen wurde die Milchzuckervergärbarkeit besser.

3. Einfluß des Nährbodens und anderer Faktoren auf die Hitzewiderstandsfähigkeit der Colibakterien.

Um festzustellen, welchen Einfluß verschiedene Nährböden auf die Resistenz von Colibakterien haben, wurden die Stämme E_1 und F je einmal auf Bouillonagar und Milchzuckerbouillon-Agar geimpft, 72 Std. bei 37° C bebrütet und anschließend mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Physiologische Kochsalzlösung wurde gewählt, um den Einfluß eines Nährmediums während der Erhitzung auszuschalten. Die Abschwemmungen wurden 24 Std. bei 37° C aufbewahrt und Resistenzprüfungen durchgeführt: mit Stamm E_1 unmittelbar nach der Abschwemmung, desgl. $1\frac{1}{2}$, 3, $4\frac{1}{2}$ und 24 Std. nach der Abschwemmung, mit Stamm F wurden sofort, weiter nach 1, $2\frac{1}{2}$, $4\frac{1}{2}$ und 24 Std. Resistenzprüfungen vorgenommen.

Wie aus Tab. 3 hervorgeht, hat der hier für die Vorzüchtung benutzte Nährboden keinen wesentlichen Einfluß auf die Höhe der Resistenz. Auffallend ist hingegen die Abhängigkeit der Resistenz von der Aufbewahrungsdauer der Abschwemmung. Innerhalb der ersten 1—$1\frac{1}{2}$ Std. nimmt die Resistenz einen starken Anstieg, um schon nach $4\frac{1}{2}$ Std., in jedem Fall aber nach 24 Std., wieder auf die Ausgangsresistenz zurückfallen.

Von gleicher Bedeutung für die Resistenzhöhe ist, wie Tab. 4 zeigt, die Kultivierungsdauer auf den festen Nährböden. Das Maximum der Hitzefestigkeit liegt unter den Versuchsbedingungen bei 40 stünd. Vorzüchtung, um nach 88 Std. fast völlig verlorengegangen zu sein. Wie im vorhergehenden Versuch (Tab. 3) treten auch hier noch positive Werte auf, selbst wenn vorher die Resistenzgrenze schon erreicht zu sein schien. Eine Er-

Tabelle 3.

Stamm		Std.	Zeit in Minuten												
			0	5	10	15	20	23	26	28	30	33	36	38	40
E_1	Bouillon-Agar	0	+	+	+	—	—	—	—	—	—				
		1½	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
		3	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
		4½	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		24	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Milchzuckerbouillon-Agar	0	+	+	+	+	—	—	—	—	—				
		1½	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—
		3	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		4½	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
		24	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
F	Bouillon-Agar	0	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		1	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		2½	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—
		4½	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
		24	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Milchzuckerbouillon-Agar	0	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		1	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		2½	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—
		4½	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
		24	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 4.
Kultivierungsdauer bei Vorzüchtung auf Bouillon-Agar.

Kultivierungsdauer	Erhitzungszeit in Min.											Zeit nach der Abschwemmung
Std.	0	5	10	15	20	23	26	28	30	33	36	Std.
16	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	2½
40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2½
88	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	2½
112	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	3
136	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3
160	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	2½
184	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	2½

klärung dafür dürfte darin bestehen, wenn man von physikalischen Faktoren, z. B. Klumpenbildung, Hautbildung usw. absieht, daß die Zahl der lebensfähigen Keime so gering geworden ist, daß im ccm nicht immer 1 Keim vorhanden ist. Bei diesen wenigen noch lebenden Keimen handelt es sich um die hitzewiderstandsfähigsten Zellen, deren Zahl selbst durch eine weitere Erhitzung nur langsam verringert wird, so daß über eine längere Zeitspanne Sprungwerte erhalten werden können. Hieraus ergibt sich die Schwierigkeit, die Abtötungsgrenze anzugeben. Es muß gefordert werden, daß die Prüfung so weit fortgesetzt wird, bis eine große, lückenlose Folge negativer Proben erhalten wird. Nach genügend langer Zeit wird eine restlose Abtötung erreicht werden, vorausgesetzt, daß die Erhitzungstemperatur oberhalb des Maximums liegt. Als Maximum wäre die höchste Temperatur anzusehen, die bei unendlich langer Einwirkungszeit noch keine Abtötung hervorruft. Oberhalb des Maximums muß die Abtötung in endlicher Zeit

erfolgen. Ein vorzeitiges Auftreten negativer Zwischenwerte wäre gleichbedeutend mit einer starken Keimverminderung.

Die vorstehenden Versuche zeigen, daß die Hitzeresistenz der geprüften Colibakterien keine konstante Eigenschaft ist. Es erhob sich die Frage. ob unter den Kultivierungsbedingungen, wie sie bei den Prüfungen von Erhitzungsapparaten mit Teststämmen angewandt werden, ebenfalls eine Änderung der Hitzeresistenz auftritt.

Die bakteriologische Prüfung von Milcherhitzungsapparaten zerfällt in die Feststellung einer allgemeinen Keimverminderung und in den Nachweis technisch schädlicher und pathogener Keime. Als Vergleichsmaßstab für die Beurteilung eines Erhitzungsverfahrens wird hierbei die Wirkung der Dauererhitzung zugrunde gelegt, da dieses Verfahren eine praktisch ausreichende Keimverminderung ergeben und desgleichen eine Abtötung etwa in der Milch vorhandener pathogener Keime mit praktisch ausreichender Sicherheit bewirken soll. Es wird aus diesem Grunde gefordert, daß dieselben Keime, die durch die Dauererhitzung abgetötet werden, auch durch das zu prüfende Verfahren vernichtet werden. Die Prüfung der Apparate erfolgt mit Rohmilch, wie sie normalerweise an Molkereien geliefert wird.

Von den technisch schädlichen Bakterien wird eine Abtötung von solchen Zellen des Bact. coli gefordert, die nicht eine höhere Wärmeresistenz als 62° C 30 Min. besitzen.

Die Prufung auf Coli- und Tuberkelbakterien wird fur Hocherhitzer bei 84—85° C, fur Kurzzeiterhitzer bei 70—71° C und fur Dauererhitzer bei 62—63° C durchgefuhrt. Die Resistenzprufung soll mit der beimpften, vorschriftsmaßig gereinigten Versuchsmilch vorgenommen werden, und zwar sollen je 500 l Rohmilch mit 1 l Coli-Stammilch beimpft werden. Die Coli-Stammilch wird in der Weise hergestellt, daß auf 1 l sterilisierte Magermilch eine 24 Std. alte, auf Milchzuckerbouillon-Agar normaler Zusammensetzung gewachsene Colikultur gegeben wird. Die mit der Abschwemmung beimpfte, sterilisierte Milch wird dann 16 Std. bei Zimmertemperatur (20° C) gehalten und alsdann zur Versuchsmilch hinzugegeben.

Wie oben gezeigt wurde, ist die Dauer der Vorzüchtung, desgleichen die seit der Abschwemmung verstrichene Zeit von Einfluß auf die Höhe der Resistenz. Es erhob sich die Frage, ob eine Änderung der Hitzewiderstandsfähigkeit der Bakterien auch bei der Bereitung der Coli-Stammmilch und während der Erhitzerprüfung in der Versuchsmilch erfolgen kann. Aus diesem Grunde wurden Vorzüchtungen 1. nach der von Henneberg (5) angegebenen Weise und 2. nach vorstehend geschildertem, für die Erhitzerprüfung vorgeschriebenem Verfahren vorgenommen. Henneberg züchtete die Kulturen 8—10 Std. bei 37° C in 60—70 ccm steriler Milch vor mit nachfolgender 10—15 stünd. Bebrütung bei 20° C. Mit der so vorbehandelten Kultur wurden 1500—2000 l Versuchsmilch (Rohmilch) nach vorheriger Verteilung der vorgezüchteten Kultur in 5 l Rohmilch beimpft. Im Verlaufe dieser Vorzüchtung wurden von uns Resistenzprüfungen durchgeführt und zwar sofort nach der Abschwemmung (Versuch 1), nach 8 stünd. Bebrütung bei 37° C (Versuch 2), nach weiterer 16 stünd. Bebrütung bei Zimmertemperatur (Versuch 3), sofort nach Beimpfung der Versuchsmilch (Versuch 4) und nachdem die beimpfte Versuchsmilch 2 Std. 50 Min. bei Zimmertemperatur gestanden hatte (Versuch 5). Die Resistenzprüfungen wurden bei 62° C durchgeführt. Benutzt wurden die Stämme F, 43 und 44 (Tab. 5).

Während der Vorzüchtung in steriler Magermilch hielt sich die Resistenz einigermaßen auf gleicher Höhe, desgleichen auch unmittelbar nach Beimpfung

Tabelle 5.

Stamm		Versuch	Zeit in Min.												
			0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36
F	Sterile Magermilch	I	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—
		II	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	+	—
		III	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+	+	—	—
	Rohmilch	IV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—
		V	+	+	+	+	—	+	—	—	—	+	+	+	+
43	Sterile Magermilch	I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—
		II	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	—	+
		III	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
	Rohmilch	IV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
		V	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—
44	Sterile Magermilch	I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—
		II	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
		III	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Rohmilch	IV	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+
		V	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—

der Versuchsmilch. Während der folgenden 2 Std. 50 Min. konnte eine Abnahme der Hitzefestigkeit der Keime festgestellt werden.

II.

1. Die Hitzeresistenz der Colibakterien während der Vorzüchtung in Milch für die Prüfung von Erhitzungsapparaten.

Zu ähnlichen Eegebnissen kamen wir, wenn die Bereitung der Colikulturen und die Beimpfung der Versuchsmilch nach den Anforderungen für die Milcherhitzerprüfung erfolgt sind. Benutzt wurden die Stämme 41 und 44. Die Resistenz wurde bei 62° C geprüft, und zwar diejenige der Coli - Stammmilch kurz vor Beimpfung der Versuchsmilch, die der beimpften Versuchsmilch in Abständen von 2 Std. über eine Zeitspanne von 20 Std. Am Schluß des Versuches wurde wieder eine Resistenzprüfung der Stammilch vorgenommen.

Auch hier zeigt die in steriler Magermilch vorgezüchtete Kultur die höchste Hitzewiderstandsfähigkeit. Bei Übertragung in Rohmilch macht sich sofort eine Abschwächung der Hitzeresistenz geltend, die bei Stamm 41 etwa 50% beträgt und bei Stamm 44 weniger stark in Erscheinung tritt (Tab. 6 u. 7). 1½ Std. nach Beimpfung der Versuchsmilch ist die Abtötungszeit für den Stamm 44 gegenüber der Stammilch um mehr als 80% zurückgegangen, während Stamm 41 einen Abfall um 66% erkennen läßt. Die im Verlauf der folgenden 20 Std. gemachten Resistenzprüfungen zeigen, daß ein Wiederanstieg der Hitzewiderstandsfähigkeit während dieser Zeit nicht erfolgt. Die Resistenzabnahme der Stammilch ist, wie die am Schluß des Versuches (nach 24 Std.) durchgeführte Prüfung zeigt, erheblich geringer als die der Versuchsmilch. Eine Konstanz der Hitzeresistenz liegt aber auch hier nicht vor.

Eine Resistenzabnahme wurde zunächst in Rohmilch, die für die Prüfung von Milcherhitzungsapparaten Verwendung finden soll, beobachtet. Es war deshalb wichtig, festzustellen, ob in kurzzeiterhitzter oder hocherhitzter

Tabelle 6.

	pH	0′	3′	6′	9′	12′	15′	18′	21′	24′	27′	30′
Coli 41 in steriler Magermilch	6.63	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—
Coli 41 in Rohmilch	6,61	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
nach 1½ Std. . . .		+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 3½ Std. . . .	6,58	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 5½ Std. . . .		+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 7½ Std. . . .	6,54	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 9½ Std. . . .		+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
„ 11½ Std. . . .		+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
„ 13½ Std. . . .	6,55	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+
„ 15½ Std. . . .		+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 17½ Std. . . .	6,32	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 19½ Std. . . .		+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 21½ Std. . . .	6,32	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Stammilch n. 40 Std.	5,65	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—

Tabelle 7.

	pH	0′	3′	6′	9′	12′	15′	18′	21′	24′	27′	30′
Coli 44 in steriler Magermilch	6,46	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Coli 44 in Rohmilch	6,59	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
nach 1½ Std. . . .		+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 3½ Std. . . .	6,58	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 5½ Std. . . .		+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 7½ Std. . . .	6,52	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 9½ Std. . . .		+	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—
„ 11½ Std. . . .		+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 13½ Std. . . .	6,53	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 15½ Std. . . .		+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 17½ Std. . .	6,30	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 19½ Std. . . .		+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 21½ Std. . . .	6,20	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Stammilch n. 40 Std.		+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—

Coli 41 und 44 in steriler Magermilch 16 Std. vorgezüchtet, dann übertragen in Rohmilch.

Tabelle 8.

	pH	0′	3′	6′	9′	12′	15′	18′	21′	24′	27′	30′
Coli 41 in ster. Magermilch	6,60	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
nach Beimpfen . . .	6,70	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 2 Std.	6,99	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 11 Std.	6,53	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 14 Std.	6,43	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 9.

	p_H	0′	3′	6′	9′	12′	15′	18′	21′	24′	27′	30′
Coli 44 in ster. Magermilch	6,67	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
nach Beimpfen . . .	6,72	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 2 Std.	6,70	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 11 Std.	6,55	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 14 Std.	6,49	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 17 Std.	6,56	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Coli 41 und 44 in steriler Magermilch 16 Std. vorgezüchtet, dann übertragen in kurzzeit-erhitzte Milch.

Tabelle 10.

	p_H	0′	3′	6′	9′	12′	15′	18′	21′	24′	27′	30′
Coli 41 in ster. Magermilch	6,60	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
nach Beimpfen . . .	6,68	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 2 Std.	6,65	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 5 Std.	6,60	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 8 Std.	6,57	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 11 Std.	6,42	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—
„ 14 Std.	5,99	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 17 Std.	5,79	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 20 Std.		+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 11.

	p_H	0′	3′	6′	9′	12′	15′	18′	21′	24′	27′	30′
Coli 44 in ster. Magermilch	6,67	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
nach Beimpfen . . .	6,68	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 2 Std.	6,68	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 5 Std.	6,63	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 8 Std	6,58	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 11 Std.	6,45	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 14 Std.	6,02	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
„ 17 Std.	5,67	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 20 Std.		+	+	—	—	—	—	+	—	+	—	—

Coli 41 und 44 in steriler Magermilch 16 Std. vorgezüchtet, dann übertragen in hocherhitzte Milch.

Milch, durch die die Rohmilch unter Umständen ersetzt werden könnte, die gleiche Erscheinung zu beobachten ist. Wie die Tabellen 8—11 zeigen, kann auch hier von einer Konstanz der Resistenz nicht die Rede sein.

Hocherhitzte Milch, die zur Bereitung von Coli-Stammilch herangezogen wurde, verhielt sich wie sterilisierte Milch, d. h. die Resistenz ging hier nur sehr langsam zurück. Wurde dagegen die Coli-Stammilch mit

Tabelle 12.
Temperatur 57° C (unmittelbar nach Beimpfung).

Zeit	Keimzahl	I[1])	II	III
0′	122 000		122 000	20,94
2′	40 000	0,357	39 910	
4′	7 700	0,691	13 040	
8′	1 600	0,542	1 395	
16′	100	0,444	15,94	
Mittel 0,559				

(30′ nach Beimpfung.)

Zeit	Keimzahl	I	II	III
0′	89 000		89 000	9,44
2′	27 000	1,747	7 969	
4′	13 000	1,057	711,9	
8′	130	0,817	5,72	
Mittel 1,207				

[1]) I = Absterbe-Geschwindigkeitskonstante K.
II = errechnete Keimzahlen unter Verwendung des mittleren K-Wertes.
III = erforderliche Zeit in Min. zur Reduktion der Keimzahl auf 1 Keim pro ccm.
I—III gilt für Tabelle 12—13a.

Tabelle 12a.
Temperatur 62° C (unmittelbar nach Beimpfung).

Zeit	Keimzahl	I	II	III
0′	125 000		125 000	10,02
2′	10 000	1,253	11 990	
4′	930	1,226	1 151	
6′	157	1,111	112,9	
8′	19	1,099	10,62	
Mittel 1,172				

(30′ nach Beimpfung.)

Zeit	Keimzahl	I	II	III
0′	131 000		131 000	7,97
2′	42 000	1,720	6 829	
4′	280	1,538	354,3	
6′	27	1,412	18,46	
8′	6	1,240	0,9622	
Mittel 1,478				

Rohmilch oder kurzzeiterhitzter Milch angesetzt, so konnte im allgemeinen eine schnellere Resistenzabnahme beobachtet werden.

Tabelle 13.
Temperatur 57° C (unmittelbar nach Beimpfung).

Zeit	Keimzahl	I	II	III
0′	270 000		270 000	36,68
2′	144 000	0,314	136 600	
4′	48 500	0,430	69 030	
8′	21 000	0,319	17 640	
16′	2 160	0,302	1 155	
Mittel 0,341				

(30′ nach Beimpfung.)

Zeit	Keimzahl	I	II	III
0′	325 000		325 000	19,93
2′	31 500	1,167	90 950	
4′	26 000	0,632	25 410	
8′	8 600	0,454	1 990	
16′	2 850	0,296	12,22	
Mittel 0,637				

Tabelle 13a.
Temperatur 62° C (unmittelbar nach Beimpfung).

Zeit	Keimzahl	I	II	III
0′	265 000		265 000	15,44
2′	92 000	0,529	56 580	
4′	6 800	0,916	10 430	
6′	1 750	0,835	2 066	
8′	128	0,955	410,4	
Mittel 0,809				

(30′ nach Beimpfung.)

Zeit	Keimzahl	I	II	III
0′	269 000		269 000	6,45
2′	1 200	2,706	5 583	
4′	45	2,175	115,6	
6′	31	1,507	2,398	
8′	5	1,362	$4975 \cdot 10^{-6}$	
Mittel 1,938				

Außer durch die vorstehend beschriebenen qualitativen Versuche wurde die Abnahme der Resistenz der Colibakterien in der Versuchsmilch quantitativ verfolgt.

Dieses geschah in der Weise, daß jeweils genau 1 ccm der beimpften Versuchsmilch in sterile Ampullen eingefüllt und in bekannter Weise nach Verfahren I der Erhitzung unterworfen wurde. Ich wählte als Erhitungstemperatur jeweils 57 und 62° C.

Erhitzungsversuche wurden unmittelbar nach Beimpfung der Versuchsmilch und 30 Min. danach angesetzt; als Versuchsmedium diente Rohmilch (Tab. 12 u. 13).

Die Auswertung der Keimverminderungsversuche erfolgte zunächst in der Weise, daß aus den nach verschiedenen Zeiten erhaltenen Keimzahlen die Absterbe-Geschwindigkeitskonstanten errechnet wurden nach der von Sattler (12) hierfür angegebenen Formel: $K = \frac{1}{t} \cdot 2.3025 \cdot \log \frac{N}{N-n}$. N bedeutet hierin die Anfangskeimzahl, $N-n$ die Zahl der nach t-Min. Hitzeeinwirkung noch lebenden Bakterien.

Wie aus allen Versuchen hervorgeht, ist die Absterbegeschwindigkeitskonstante keine feststehende Größe, sondern nimmt im allgemeinen mit der Dauer der Hitzeeinwirkung ab. Es ist also nicht ganz berechtigt, den Vorgang der Bakterienvernichtung durch Hitze als nach dem Gesetz für monomolekuläre Reaktionen verlaufend, zu bezeichnen. Falls man die auftretenden Abweichungen auf experimentelle Unzulänglichkeiten zurückführen will, kann man unter Zugrundelegung eines mittleren K-Wertes die Zeit berechnen, die erforderlich ist, um eine Keimreduktion bis auf 1 Keim im ccm herbeizuführen. Wie aus den Versuchen hervorgeht, ist diese Zeit bei der gleichen Erhitzungstemperatur 30 Min. nach Beimpfen der Versuchsmilch erheblich geringer als unmittelbar nach Beimpfung derselben. Es kommt hierin also die Resistenzabnahme während der Zeitspanne von 30 Min. deutlich zum Ausdruck. Durch Umstellung der für die Absterbegeschwindigkeitskonstante angegebenen Formel zu: $\log N - n = \log N - \frac{K \cdot t}{2{,}3025}$ und bei Benutzung des errechneten mittleren K-Wertes kann man unter Zugrundelegung der Anfangskeimzahl die Zahl der nach t Min. Hitzeeinwirkung noch lebenden Zellen berechnen. Dieses ist erfolgt. Die errechneten Keimzahlen stimmen in großen Zügen mit den experimentell gefundenen überein.

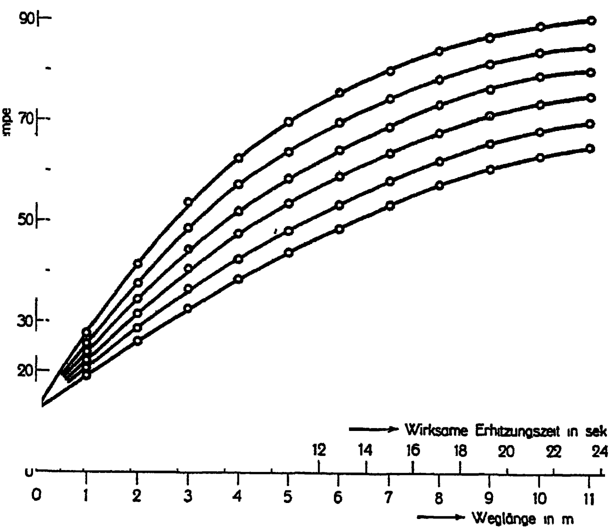
Die praktische Prüfung von Milcherhitzungsapparaten mit der beimpften Versuchsmilch nimmt etwa 60 Min. in Anspruch, eine Zeitspanne, in der, wie vorstehende Versuche zeigen, durchaus eine Abnahme der Resistenz der Colibakterien erfolgt. Die Voraussetzung zur Prüfung von Erhitzern mit Teststämmen, die Konstanz ihrer Hitzewiderstandsfähigkeit während der Versuchsdauer, ist also nicht gewährleistet.

2. Bestimmung der Hitzeresistenz mittels eines Erhitzers mit kleiner Stundenleistung.

Während eine Änderung der Resistenz in den vorhergehenden Versuchen nach dem Verfahren der Dauererhitzung festgestellt worden war, erschien es wichtig, festzustellen, wie sich eine Resistenzänderung bei der Kurzzeiterhitzung zeigen würde. Da hierbei die Erhitzungszeit konstant ist, kann eine Verminderung der Resistenz nur in einer Verschiebung der Abtötungstemperatur zum Ausdruck kommen. Die Erhitzung der Milch erfolgte in einem Erhitzer mit kleiner Stundenleistung, wie er von Herrn Prof. Plock, Direktor des Institutes für Maschinenwesen der Preuß. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel, konstruiert wurde. An dieser Stelle sei kurz auf den Bau des Apparates und auf die Versuchsanordnung eingegangen.

Im Gegensatz zu Apparaten, wie sie bisher in der milchwirtschaftlichen Praxis Anwendung gefunden haben, erfolgt die Erhitzung der Milch in einem Röhrenerhitzer, dessen Erhitzungsrohre aus Glas bestehen und in 2 Reihen übereinander, seitlich ver-

setzt, angeordnet sind. An den Enden sind die Glasrohre jeweils mit durch Gummi isolierten Umkehrbogen miteinander verbunden. Durch Zu- und Abschalten einzelner Erhitzerrohre kann bei konstant eingestellter Stundenleistung die Erhitzungsdauer in weiten Grenzen geändert werden. Die kalte Milch wird durch das unterste Rohr in den Apparat eingeführt und verläßt mit der gewünschten Temperatur das letzte eingeschaltete Erhitzerrohr, an dessen Ende sich ein Temperaturmeßstutzen befindet. Der Apparat wird durch Dampf beheizt, dessen Druck durch ein Reduzierventil von ungefähr 10 Atm. auf 1 Atm. vermindert wird. Ein Nadelventil gestattet eine weitere Veränderung des Dampfdruckes und damit eine bequemere Regulierung der Erhitzungstemperatur. Zwischen Nadel- und Reduzierventil befindet sich ein Dampf-Ausgleichsgefaß, das die Dampfstoße- und -schwankungen der Hauptleitung ausschalten soll. Durch diese Anordnung kann die Milch-Austrittstemperatur auf 0,1° C genau eingestellt und gehalten werden. Der Temperaturanstieg im Apparat geht, für 11 Erhitzerrohre dargestellt, aus der beigefügten Abbildung hervor. Die Verwendung von 11 Rohren hat gegenüber der Verwendung von 7 Rohren den Vorteil, daß die Verweildauer der Milch oberhalb des Temperaturmaximums der Bakterien länger ist, wodurch eine bessere Abtötungswirkung erzielt werden muß.



Norm-Erhitzer 60 l/h.
Temperaturanstieg bei 11 Erhitzerrohren ohne Berücksichtigung der Umkehrbogen.

Vor dem eigentlichen Erhitzungsversuch wird der Apparat sorgfältig mit einem gut desinfizierenden Reinigungsmittel behandelt und anschließend ca. 30 Min. bis zur völligen Durchwärmung mit Wasser beschickt, welches im Apparat auf 85—90° C erhitzt wird. Nach dem Umschalten auf Milch wird die Austrittstemperatur auf 80° C eingestellt und eine Temperaturspanne von 80—68° C durchfahren. Im kritischen Intervall von 77—72° C erfolgt alle 0,2° die Entnahme von Proben.

Das Absinken der Resistenz der Keime während des Verweilens in der Versuchsmilch wurde dadurch geprüft, daß mit einer größeren Menge beimpfter Milch zwei Versuche in gewissen Zeitabständen gefahren wurden. Aus den Tab. 14 und 15 geht das Versuchsergebnis deutlich hervor.

Die Verminderung der Resistenz beim zweiten Versuch zeigt sich in einem Absinken der Abtötungstemperatur, z. T. um mehrere Grade (Tab. 14). In den parallel durchgeführten Resistenzprüfungen nach dem Verfahren der Dauererhitzung tritt die Abnahme der Hitzewiderstandsfähigkeit in einer geringeren Abtötungszeit in Erscheinung (Tab. 15).

Die Untersuchungen haben also zu dem Ergebnis geführt, daß die Hitzewiderstandsfähigkeit von Colibakterien unter den Züchtungsbedingungen, wie sie für die Prüfung von Milcherhitzungsappara-

Tabelle 14.

Datum	11 Rohre			7 Rohre		
	Versuch	Abtotungstemperatur	Zeit der Probenahme	Versuch	Abtotungstemperatur	Zeit der Probenahme
6. 1.	I II	74,4° 73,6°	10^{11} 17^{09}	I II	76,8° 75,6°	11^{21} 18^{23}
7. 1.	I II	77,6° Grenze bei 73,0° noch nicht erreicht	9^{48} 16^{45}	I II	75,6° 73,2°	11^{40} 18^{10}
8. 1.	I II	76,3° 75,2°	9^{31} 16^{45}	I II	77,0° 76,6°	10^{57} 18^{03}
9. 1.	I II	76,0° 75,8°	9^{29} 16^{49}	I II	77,0° 76,4°	10^{51} 17^{53}
10. 1.	I II	76,8° 73,8°	10^{11} 16^{36}	I II	76,9° 75,4°	11^{45} 18^{45}

Tabelle 15.
Resistenzprufungen zu 5 Testversuchen nach dem Verfahren der Dauererhitzung.

	Min.	0	2	4	5	6	8	10	11	14	15	17	20	23	26	28	30
Versuch 1	1	+			+			+	+		+		+	+	—	—	—
6. 1. 36	2	+			+			+	+		+		—	—	—	—	—
	2a	+			+			+	+		+		—	—	—	—	—
	3	+			—			—	—		—		—	—	—	—	—
	3a	+			+			—	—		—		—	—	—	—	—
Versuch 2	1	+			+			+	+		+		+	+	—	—	—
7. 1. 36	2	+			+	—	—		+	+		—	—	—	—	—	—
	2a	+			(+)	—	—		—	—		—	—	—	—	—	—
	3	+			—	—	—		—	—		—	—	—	—	—	—
	3a	+			—	—	—		—	—		—	—	—	—	—	—
Versuch 3	1	+			+			+	+		+		+	+	—	—	—
8. 1. 36	2	+			+		+		+	+		—	—	—	—	—	—
	2a	+	+	+		+	—		—	—		—	—	—	—	—	—
	3	+	+	+		+	—		—	—		—	—	—	—	—	—
	3a	+	+	—		—	—		—	—		—	—	—	—	—	—
Versuch 4	1	+			+			+	+		+		+	+	—	—	—
9. 1. 36	2	+	+	+	+	+	+		—	—		—	—	—	—	—	—
	2a	+	+	—	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3	+	+	(+)	—	—	—		—	—		—	—	—	—	—	—
	3a	+	+	—	—	—	—		—	—		—	—	—	—	—	—
Versuch 5	1	+			+			+	+		+		+	+	—	—	—
	2	+	+	+	+	+	+		—	—		—	—	—	—	—	—
	2a	+	+	+	—	—	—		—	—		—	—	—	—	—	—
	3	+	+	+	—	—	—		(+)	—		—	—	—	—	—	—
	3a	+	+	—	—	—	—		—	—		—	—	—	—	—	—

1 = Resistenz des Coligemisches sofort nach der Abschwemmung in Milch.
2 = Resistenz der Versuchsmilch zu Beginn des 1. Versuchs.
2a = Resistenz der Versuchsmilch am Schluß des 1. Versuchs.
3 = Resistenz der Versuchsmilch zu Beginn des 2. Versuchs.
3a = Resistenz der Versuchsmilch am Schluß des 2. Versuchs.

ten vorgeschrieben sind, keine konstante Eigenschaft ist. In der beimpften Versuchsmilch ist eine

stetige Abnahme der Resistenz festzustellen, ganz gleich, ob die Resistenzbestimmung nach dem Verfahren der Dauererhitzung oder nach dem der Kurzzeiterhitzung vorgenommen wird. Die Resistenzabnahme zeigt sich schon nach einer Zeitspanne, die noch innerhalb der Versuchsdauer einer Apparateprüfung liegt. Die Voraussetzung für eine solche Prüfung, die Konstanz der Hitzefestigkeit der Bakterien, deren Abtötung nachgewiesen werden soll, ist nicht erfüllt. Die bakteriologische Wirksamkeit eines Erhitzungsapparates kann also nach diesem Verfahren nicht festgestellt werden.

3. Vorschlag eines neuen Verfahrens zur Prüfung von Milcherhitzungsapparaten.

Da nun die Prüfung von Apparaten ohne eine möglichst gut definierte Basis nicht denkbar ist, schlagen wir vor, den vorstehend beschriebenen Erhitzer mit kleiner Stundenleistung als Grundlage für die Prüfung anderer Hoch- und Kurzzeiterhitzungsapparate zu verwenden. Dieser Erhitzer dürfte auf Grund seiner Bauweise eine stets gleichbleibende Wirksamkeit in bakteriologischer Hinsicht aufweisen. Wichtig ist, daß die in der Milch vorkommenden pathogenen Arten unter allen Umständen abgetötet werden. Der Gehalt an technisch schädlichen Keimen soll so vermindert werden, daß bestimmte Anforderungen an die Haltbarkeit der erhitzten Milch erfüllt sind. Ein Vergleich des zu prüfenden Erhitzers mit dem Testerhitzer müßte in der Weise vor sich gehen, daß in Parallelversuchen die Wirkungsweise beider Apaarate bestimmt würde. Parallelversuche müssen gefordert werden, da die Hitzewiderstandsfähigkeit der Keime in der Versuchsmilch Änderungen unterworfen ist. Die Versuche müssen zu den verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt werden. Bei der laufenden bakteriologischen Untersuchung der Flaschenmilch eines holsteinischen Trinkmilchbetriebes ergab sich z. B., daß besonders während der kälteren Jahreszeit die Milch einen hohen Gehalt an thermoresistenten Keimen aufwies, wodurch der Pasteurisierungseffekt stark in Mitleidenschaft gezogen wurde.

Die Prüfung der Wirksamkeit von Erhitzungsapparaten unter Verwendung des Testapparates als Beurteilungsgrundlage erfolgt in der Weise, daß zunächst von der gemeinsamen Rohmilch, desgleichen von den nach dem Erhitzer, Heißhalter bzw. Austauscher entnommenen Proben der Colititer und die Keimzahl festgestellt werden. An den Probenahmestellen des zu untersuchenden und des Vergleichsapparates sind Metallrohrkühler angeschlossen, die eine stets gleichmäßige und schnelle Herabkühlung der erhitzten Milch bewirken. Die Bestimmung des Colititers erfolgt normalerweise in Milchmengen von 10^3—10^{-4} ccm durch Anreicherung in steriler Galle oder Keßlerscher Nährlösung 24 Std. bei 37° und nachfolgendem Ausstrich auf Endo- oder Bromthymolblau-Trypaflavin-Agar. Für die Keimzahlbestimmung dient Milchzuckerbouillon-Agar. Bei 71° und 70° C wird hinter dem Heißhalter bzw. Austauscher weiterhin 1 l Milch entnommen und in Sole auf 4—8° C heruntergekühlt. Diese Probe wird 24 Std. bei einer nicht über 8° liegenden Temperatur aufbewahrt und alsdann nach den Richtlinien für den Preisbewerb für Milch und Milcherzeugnisse der Deutschen Milchwirtschaftlichen Vereinigung verarbeitet. Tab. 16 und 16a stellen einen Ausschnitt aus einer derartigen Apparateprüfung dar. Bei dem zu prüfenden Apparat handelt es sich um einen Kurzzeiterhitzer, der nach dem Röhrenprinzip gebaut ist. Seine bakteriologische Wirksamkeit bleibt

Tabelle 16.
Zu prüfender Apparat (Versuch vom 8. 6. 36).

Probe Nr.	Probe Art	Zeit	Temperatur °C	Colinachweis in ccm: 10^3	5	1	0,1	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Arithmet. Mittel der Doppelkeimzahlbestimmung
1	Rohmilch				+	+	+	+	+	+	—	—	930 000
2	erh. Milch	11^{51}	71,0		—	—	—	—	—	—			45 000
3	„ „	11^{58}	69,9	+	—	—	—	—	—	—			44 000
4	„ „	12^{01}	69,1	+	—	—	—	—	—	—			30 000
5	„ „	12^{04}	68,0	+	+	—	—	—	—	—			46 000
6	„ „	12^{09}	66,9	+	+	+	—	—	—	—			67 000
7	„ „	12^{14}	66,1	+	+	—	—	—	—	—			172 000
8	„ „	12^{17}	65,0	+	+	+	—	—	—	—			116 000
9	„ „	12^{21}	64,1	+	+	+	+	—	—	—			170 000
10	„ „	12^{24}	63,0	+	+	+	+	—	—	—			215 000
11	Rohmilch				+	+	+	+	—	—	—	—	900 000

Haltbarkeitsproben nach Heißhalter und Austauscher.

A. Sinnenprüfung.

	HH.	A.
Geschmack	6	4
Geruch	2	1
Aussehen (Aufrahmfähigkeit)	2	2
Reinheitsgrad	1	1
	11	8

B. Bakteriologische Prüfung.

	HH.	A.
Reduktase	1	1
Katalase	1	1
Keimgehalt	3	1
Coli-Nachweis	1	0
	6	3

insgesamt nach Heißhalter = 17 Punkte
nach Austauscher = 11 Punkte

Tabelle 16a.
Vergleichsversuch (Versuch vom 8. 6. 36).

Probe Nr.	Probe Art	Zeit	Temperatur °C	Coli-Nachweis in ccm: 10^3	5	1	0,1	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Arithmet. Mittel der Doppelkeimzahlbestimmung
1	Rohmilch				+	+	+	+	+	+	—	—	930 000
2	erh. Milch	10^{40}	71,0	—	—	—	—	—	—	—			200
3	„ „	10^{46}	70,0	—	—	—	—	—	—	—			3 100
4	„ „	10^{53}	69,1	—	—	—	—	—	—	—			2 300
5	„ „	11^{05}	68,2	—	—	—	—	—	—	—			2 100
6	„ „	11^{15}	67,0	+	+	—	—	—	—	—			11 000
7	„ „	11^{20}	65,9	+	+	+	—	—	—	—			13 300
8	„ „	11^{25}	65 2	+	+	—	—	—	—	—			27 000
9	„ „	11^{29}	64,1	+	+	+	—	—	—	—			32 000
10	„ „	11^{45}	63,2		+	+	+	—	—	—			58 000
11	Rohmilch				+	+	+	+	+	+	—	—	700 000

a) Sinnenprüfung.

Geschmack	8
Geruch	3
Aussehen (Aufrahmfähigkeit)	2
Reinheitsgrad	1
	14

b) Bakteriologische Prüfung.

Reduktase	1
Katalase	1
Keimgehalt	3
Coli-Nachweis	1
	6

insgesamt nach Heißhalter = 20 Punkte

hinter der des Vergleichsapparates (Tab. 16a) nicht nur in bezug auf die durch ihn bewirkte Keimverminderung, sondern auch durch die von ihm bewirkte Herabsetzung des Coligehaltes zurück. Aus dem Unterschied der Wirkungsweise des zu prüfenden Apparates einerseits und des Vergleichsapparates andererseits lassen sich also brauchbare Unterlagen für die Beurteilung von Milcherhitzern gewinnen. Die Berücksichtigung einer Temperaturspanne von 71 bis etwa 60° C bei der Prüfung von Kurzzeiterhitzern ist deshalb notwendig, weil die Höhe des Colititers der Rohmilch von vornherein nicht bekannt ist und der Vergleichsapparat wenigstens bei der niedrigsten geprüften Temperatur in 1000 ccm Milch einen positiven Colibefund geben muß.

Zusammenfassung.

1. Die vorstehenden Untersuchungen haben ergeben, daß die Hitzewiderstandsfähigkeit resistenter Colibakterien keine konstante Eigenschaft ist, vielmehr nur der äußere Ausdruck für den jeweils bestehenden physiologischen Zustand der Zelle zu sein scheint.

2. Durch Bestimmung der Abtötungsgeschwindigkeit von Colistämmen in Zeitabständen bei einer bestimmten Temperatur erhält man in Form der mittleren Absterbegeschwindigkeitskonstanten einen guten Maßstab für die Resistenzhöhe.

3. Eine bakteriologische Prüfung von Erhitzungsapparaten nach den Anforderungen der „Richtlinien“ ist nicht durchführbar, da die Voraussetzung hierfür, die Konstanz der Thermoresistenz der zum Impfen benutzten Colistämme, nicht gewährleistet ist.

4. Statt der bisher benutzten Colistämme wird vorgeschlagen, einen besonderen Erhitzungsapparat mit kleiner Stundenleistung als Beurteilungsgrundlage für die Prüfung von Erhitzern zu wählen. Eine künstliche Beimpfung der Versuchsmilch würde hierdurch in Fortfall kommen.

5. Die bei Benutzung des Testapparates als Beurteilungsgrundlage für Milcherhitzer anzuwendende Untersuchungsmethodik wird dargelegt und an einem praktischen Beispiel erläutert.

Die Prüfung eines Erhitzers gegenüber pathogenen Keimen der Milch wird durch vorliegende Arbeit nicht berührt.

Literatur.

1. Ayers, I. H., and Johnson, W. T., Journ. agricult. Res. Vol. 3. 1915. p. 401—410; Journ. Bact. Vol. 9. 1924. p. 279—284, 285—299 (zitiert nach Sattler, s. 12). — 2. Bartram, Unveröffentlichte Dissertation. Kiel 1936. — 3. Beavens, Journ. of Dairy Science. Vol. 13. 1930. p. 94. — 4. Eijkmann, Biochem. Ztschr. Juli 1908. — 5. Henneberg, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 93. 1935. S. 39—45. — 6. de Jong, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 48. 1909. S. 670—677. — 7. de Jong und de Graaff, Tijdschrift voor Veeartsanijkunde. Deel 34. Nr. 3; Deel 36. Nr. 2; zitiert nach Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 48. — 8. Peters, Diss. Techn. Hochschule München 1930. — 9. Plock, Treiber, Seelemann und Wolf, R.K.T.L.-Sonderdruck. 14. 1936. — 10. Rahn, Molkereiztg. Hildesheim. Nr. 3, 6 u. 15. 1926. — 11. Russel und Hastings, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Nr. 11. 1902. S. 339. — 12. Sattler, Milchw. Forsch. Bd. 7. 1929. S. 100—170. — 13. v. d. Sluis, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 50. 1909. S. 378—401. — 14. Zavagli, Ztschr. f. Inf. paras. Krankh. u. Hyg. der Haustiere. Bd. 45. 1933. S. 110—134. — 15. Zeller, H., Wedemann, W., Lange, L. und Gildemeister, E., Arbeit der Zweigstätte Dahlem des Reichsgesundheitsamtes Berlin. (Arch. f. Hyg. Sonderdruck.) — 16. Richtlinien für die Prüfung von Milcherhitzungsapparaten mit dem Ziel der Zulassung als Erhitzungsapparate für die Hoch-, Kurzzeit- und Dauererhitzung. (Molkereiztg. Hildesheim. 1936.)

Beiträge zur Kenntnis der Reduktionsprobe der Kuhmilch mit Berücksichtigung der Mechanik der Reduktion[1]).

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Preußischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel.]

Von **Hans-Otto Jensen.**

Einleitung und Aufgabe.

Mit der Einführung der Marktordnung in Deutschland hat auch der Gedanke der Qualitätsbezahlung der Milch immer mehr um sich gegriffen und wird jetzt teils schon durchgeführt, teils ist seine Ausführung in Vorbereitung begriffen. Man hat sich zu dieser wichtigen Maßnahme entschlossen aus der Erkenntnis heraus, daß die Qualität der Fertigerzeugnisse von der Beschaffenheit des Ausgangsprodukts, der Milch, weitgehend abhängig ist. Die Art der Milchgewinnung und ihre Weiterbehandlung bis zur Rampe der Meierei wirkt sich entscheidend für ihre Eignung zur Herstellung marktfähiger Ware aus.

Die Bezahlung nach Fettgehalt ist ein selbstverständlicher Bestandteil jeder Qualitätsbewertung. Dazu gesellt sich die Bezahlung nach dem inneren Wert der Milch, der durch die vorhandene Bakterienflora gegeben ist. Bei der Frage nach der besten Art der Untersuchung auf die bakteriologische Beschaffenheit der Anlieferungsmilch stoßen wir jedoch auf Schwierigkeiten. Es liegen allerdings eine Fülle von Methoden vor. Zu nennen wären neben der Sinnenprobe, die Schmutzprobe, die Proben auf Säuregrad (Alizarol- und Rote-Lauge-Probe), die Gärprobe und die Labgärprobe und nicht zuletzt die Reduktaseprobe. Bei der umfassenden Anwendung der letzteren ist es außerordentlich wichtig über die Ursache dieser Erscheinung, die Reduktion von Methylenblau in der Milch, genau Bescheid zu wissen.

Ursprünglich wurde sie von Chr. Barthel und Orla-Jensen als Methode zur Keimzahlschätzung eingeführt, wobei sie von der Voraussetzung ausgingen, daß ein Zusammenhang bestehe zwischen dem Keimgehalt der Milch und der Schnelligkeit, mit der der Farbstoff in die Leukobase verwandelt wird. In der Folge jedoch stellten sich manche Unstimmigkeiten heraus, so daß der Wert dieser Probe stark umstritten war. Die Angaben über die den Reduktionszeiten entsprechenden Keimzahlen schwankten auch so stark, daß die Zweifel an der Brauchbarkeit durchaus erklärlich sind.

Diese Abweichungen erklären sich zum größten Teil durch die verschiedene Reduktionskraft der einzelnen Bakterienarten, die in ganz unterschiedlichem Mengenverhältnis in den Milchproben angetroffen werden. Schuld an den stark differierenden Ergebnissen war die Untersuchungsmethodik. Es wurde daher als eines der Ziele dieser Arbeit angesehen, auf Grund einer einheitlich brauchbaren Methodik vergleichbare Ergebnisse für die Reduktionskraft der einzelnen Bakterienarten unter verschiedenen Wachstumsbedingungen zu erhalten.

Die Untersuchung der Entwicklung einzelner Bakteriengruppen in der rohen Milch während der Reduktaseprobe gab Aufschluß über die Ursache der Reduktion in der Rohmilch.

---

[1]) Erschienen als Dissertation der Philosophischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Schon früh, als man eben die Reduktionsfähigkeit der Mikroorganismen entdeckt hatte, suchte man sich darüber klar zu werden, ob die Reduktion einem Enzym „Reduktase", einem Stoffwechselprodukt oder den Nährmedien selbst zuzuschreiben wäre. Amerikanische Forscher, vor allem Thornton and Hastings (41), treten in den letzten Jahren sehr stark für die von Barthel (2) aufgestellte Theorie ein, daß die Entfärbung des Methylenblaus in der Milch in zwei Phasen verläuft: In der ersten wird der in der Milch gelöste Sauerstoff von den Bakterien verzehrt, in der zweiten entfärbt sich das Methylenblau durch in der Milch selbst befindliche Stoffe. Es schien daher notwendig, durch eigene Versuche festzustellen, ob diese Anschauung zu Recht besteht oder ob vielmehr die Bakterien selbst allein für diesen Vorgang verantwortlich zu machen sind.

A. Reduktionskraft der gewöhnlichen Milchbakterien in Reinkulturen.

1. Literatur.

Zur Untersuchung der Rohmilch sind zwei Methoden bekannt, die beide mit Methylenblau angesetzt werden, die Reduktaseprobe und die Aldehydreduktaseprobe, die streng zu unterscheiden sind. Die Aldehydreduktaseprobe nach Schardinger dient zum Erhitzungsnachweis der Milch. Die Reduktaseprobe dagegen soll den Grad der bakteriellen Infektion der Milch anzeigen. Nach einer bestimmten Aufbewahrungszeit der Milch wird zugesetzte formalinfreie Methylenblaulösung reduziert. Diese Erscheinung beruht auf der Tätigkeit von Mikroorganismen, die in der Milch wachsen.

Schon lange bevor die Reduktaseprobe als Mittel zur Qualitätsbeurteilung der Milch vorgeschlagen wurde, hatte man das Reduktionsvermögen der einzelnen Bakterien untersucht. Fr. Müller (27) und A. Wolff (46) kamen zur Erkenntnis, daß alle Bakterien die Fähigkeit zur Reduktion besitzen.

Im Jahre 1907 wandte Orla-Jensen (30) der Fähigkeit der Bakterien zur Reduktion seine Aufmerksamkeit zu. Die Milchsäurebakterien sollten langsam entfärben, schnell dagegen Micrococcus casei amari. Auch Barthel (1) glaubte, daß die Milchsäurebakterien fast unfähig zur Reduktion seien.

Bei der qualitativen Prüfung der Reduktionskraft von 22 gewöhnlich in Milch vorkommenden Mikroorganismen erhielt Fred (21) folgendes Ergebnis: Zu den am schnellsten reduzierenden Arten gehörten Str. lactis, ebenso schnell sollten Bact. aerogenes, coli, vulgare und prodigiosum wirken. Nach Dons (18) sollen die Sporenbildner, die Milchsäurestreptokokken und Mikrokokken am stärksten reduzieren. Wolff und Weigmann (44) erkannten, daß nur junge Kulturen von echten Milchsäurebakterien schnell reduzieren. Nach Rahn (32) besteht zwischen den Milchsäurebakterien und den anderen Bakterienarten ein ausgesprochener Gegensatz. Die Milchsäurebakterien besitzen ein ausgeprägtes Reduktionsvermögen nur in jugendlichem Zustand. Bei den anderen Bakterien nimmt das Entfärbungsvermögen mit dem Alter zu. Die Mikrokokken entfärben mit Ausnahme der zitronengelben sehr schnell, d. h. ebenso schnell wie die Milchsäurestreptokokken. Nach Hanke (22) reduzieren die Milchsäurestreptokokken am schnellsten. Nach den Milchsäurebakterien zeigen die Hefen und erst an dritter Stelle Darm- und Kotbakterien und Fäulniserreger eine stärkere Reduktionskraft.

Wenn man die Ergebnisse der verschiedenen Forscher vergleicht, so fallen die erheblichen Unterschiede für die Entfärbungszeiten der gleichen Bakterien auf.

Greifen wir nur einmal drei für die Milch wichtige Mikroorganismen heraus!

Wir sehen aus der Tab. 1, daß Schwankungen der Reduktionszeit für Str. lactis von 2 Min. 2 Sek. bis zu 13 Std. auftreten, bei Bact. coli von 11 Min. bis zu 13 Std. und bei Bact. aerogenes sogar von 1 Min. 10 Sek. bis zu 13 Std. Auch das Verhältnis der Reduktionskraft der Bakterien zueinander bei den einzelnen Autoren ist sehr unterschiedlich. So findet man einmal das Verhältnis Str. lactis zu Bact. coli 1 Std. 30 Min. : 7 Std. und 13 : 13 Std., Bact. coli zu Bact. aerogenes mit 7 : 2 Std. und 11 : 30 Min. Nach diesen Angaben ist ein genaueres Abwägen und Abschätzen des Verhältnisses der Reduktionskraft der Bakterienarten zueinander nicht möglich.

Tabelle 1.

	Strept. lactis	Bact. coli	Bact. aerog.	Impfart	Temperatur
Orla-Jensen	15′	12′	10′	?	38°
Cathart u. Hahn	2′ 2″	—	1′ 10″	Suspension	37°
Fred	13h	13h	11h	1—2 Ösen	37°
Dons	30′	1h 50′	1h 30′	1 ccm Kulturflüssigkeit	38°
Wolff u. Weigmann	6′	11′	30′	?	37°
Rahn	1h 30′	7h	2h	1 ccm Kulturflüssigkeit	40°

Der Zwiespalt zwischen den Untersuchungsergebnissen von Orla-Jensen (29) und den anderen Autoren weist auf eine Erscheinung hin, die zugleich die verschiedene Reduktionskraft der einzelnen Bakterienarten dem Verständnis näherbringt, nämlich auf die verschiedene Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien in ihrer Beziehung zur Reduktionskraft. Fred (21) hat erkannt, daß die Reduktionskraft eine Funktion des Wachstums ist.

Vor allem amerikanische Autoren, z. B. Chesney (16), konnten die Tatsache nachweisen, daß überimpfte Bakterien sich im neuen Nährboden für einige Zeit mit derselben Geschwindigkeit weitervermehren, wie sie es zuletzt in der Originalkultur taten. Daher ist es wichtig, daß von jungen, entwicklungsfähigen Kulturen ausgegangen wird.

Orla-Jensen (29) beachtete nicht das Alter und den Entwicklungszustand der Bakterien und kam daher zu dem Ergebnis, daß die Milchsäurestreptokokken recht langsam reduzieren. Wolff und Weigmann (44) stellten fest, daß frische Milchsäurestreptokokken sehr viel schneller reduzierten als alte. Erst Rahn (32) vereinigte die Ergebnisse der vorhergenannten Autoren. Die Milchsäurestreptokokken besitzen nach ihm ein ausgeprägtes Reduktionsvermögen nur im jugendlichen Zustand. 5 Tage alte Kulturen entfärben bereits sehr langsam, da das Vermögen zur Vermehrung stark abgenommen hat.

Alle diese Versuche zur Erkennung der Reduktionskraft der einzelnen Bakterien sind angestellt worden mit dem Ziele, um festzustellen, welche Bakterienarten in der rohen Milch vor allem reduzieren. Orla-Jensen (29) sprach der Reduktaseprobe ihren besonderen Wert zu, weil die Milchsäurestreptokokken nur schwach reduzieren sollten und er glaubte, so die Zahl der Milchschädlinge abschätzen zu können. In neuerer Zeit neigt man jedoch der Ansicht zu, daß die Milchsäurestreptokokken im wesentlichen die Reduktion des Methylenblaus in der Rohmilch verursachen.

Sämtliche Autoren haben es aber versäumt, in der Rohmilch das Wachstum während der Reduktionsprobe zu verfolgen, sondern sie haben alle aus Reinkulturversuchen ihre Schlüsse gezogen.

Wesentlich für den Ausfall der Reduktaseprobe ist ferner der Einfluß des Sauerstoffs. So schreibt Christiansen (14): Eine wesentliche Ursache für die verschiedenen Versuchsergebnisse dürfte die Reoxydierbarkeit des Methylenweiß durch den Luftsauerstoff sein.

Eine weitere Quelle der Unsicherheit bei der Ausführung der Reduktaseprobe ist die Empfindlichkeit des Methylenblaus gegen Licht. Whitehead (43) stellte fest, daß Vollmilch bei der Reduktaseprobe, die den Sonnenstrahlen ausgesetzt war, eine stark verkürzte Reduktasezeit gegenüber der Kontrolle in der Dunkelheit zeigte. Die Reaktion sollte nicht durch Enzyme bedingt sein, denn sie trat auch in erhitzter Milch auf. In Magermilch trat sie jedoch nicht ein. Whitehead vermutete, daß das Sonnenlicht eine Oxydoreduktion katalysiert, bei welcher ungesättigte Fettsäuren oxydiert und Methylenblau reduziert werden.

2. Untersuchungstechnik.

Bei Besprechung der Literatur wurde darauf hingewiesen, daß die Ergebnisse der vielen Arbeiten über die Reduktionskraft der Bakterien stark voneinander abweichen. Die Gründe sind verschiedener Art. Man muß bedenken, daß man bei Verwendung von Milchkulturen gleichzeitig mit den

Bakterienzellen auch ihre Stoffwechselprodukte mit in die Milch bringt. Wenn unter diesen auch bekanntlich nicht solche sind, die eine Reduktion hervorrufen können, so gibt es doch unter ihnen einige, die einen indirekten Einfluß ausüben, z. B. die Milchsäure. Die Menge, die in einem Kubikzentimeter einer 48 stünd. Kultur von Str. lactis enthalten ist, genügt, um das p_H der 9 ccm Magermilch, in denen die Reduktionsprobe vorgenommen wurde, von 6,4 auf 5,7 zu bringen, wie es durch mehrere eigene p_H-Messungen nachgewiesen werden konnte. Aus den Untersuchungen von Clark (13) wissen wir, daß eine Verschiebung des p_H eine Veränderung der Geschwindigkeit der Reduktion nach sich zieht. Bei alkalischer Reaktion tritt die Entfärbung langsamer ein. Allerdings würde diese Einwirkung ziemlich geringfügig sein; jedoch noch eins ist zu beachten: Durch diese Verschiebung des p_H ins saure Gebiet hinein verbessern sich die Entwicklungsbedingungen für die Milchsäurebakterien, wie die Untersuchungen von Svanberg (39) zeigen. Danach beträgt gegenüber einem Wachstum von 100% bei p_H = 6,0 das Wachstum bei p_H = 6,7 nur noch 20%. Nach Bahrs (5) liegt das Wachstumsoptimum der Alkalibildner bei p_H = 6,7—7,1, während ins saure Gebiet hinein die Fähigkeit der Vermehrung sehr schnell abnimmt. Das p_H der normalen Vollmilch beträgt 6,5—6,7, und nur bei diesem p_H kann eine Messung der Reduktionsgeschwindigkeit von Reinkulturen für die Praxis von Interesse sein.

Daher wurden stets in diesen Reinkulturversuchen die Milchsäurebakterien in Milchzuckerbouillon mit Kreidezusatz zur Neutralisation der gebildeten Säure vorgezüchtet. Zugleich wurde dadurch die schädliche Wirkung der Säure aufgehoben, so daß die Bakterien ungeschwächt zur Untersuchung kamen.

Diese Methode hatte dazu noch den Vorteil, daß eine gleichmäßige Verteilung der Bakterienmassen in der Magermilch erzielt wurde. Die Milchkulturen der meisten Milchsäurestreptokokken sind bekanntlich nach 24 Std. schon koaguliert, so daß beim Überimpfen mit der Pipette es nicht zu vermeiden ist, daß Klumpen von Milchkoagulum auch bei sorgfältigem Schütteln nicht zerteilt werden. Diese Klumpen sinken dann nach unten und die in ihnen enthaltenen Bakterien nehmen nicht an der Reduktion teil. Außerdem bleibt ein großer Teil des Koagulums an der Pipette hängen. Kleine Ausflußöffnungen können ein gutes Ausspülen verhindern und so ein quantitatives Arbeiten unmöglich machen. Ein vergleichender Versuch ergab bei sonst vollkommen gleicher Behandlung für Str. lactis aus koagulierter Milch eine Entfärbungszeit von 1^{50} Std., im Parallelversuch 1^{15} Std. Dagegen bei Verzüchtung in Kreide-Milchzuckerbouillonkulturen wurde stets dieselbe Entfärbungszeit erhalten.

Auf eine weitere Quelle der Unsicherheit sei noch hingewiesen. Alle Versuche wurden in steriler Magermilch vorgenommen. Nun war es durchaus nicht gleich, wie die Sterilisation vorgenommen worden war. Es bestand die Möglichkeit, entweder fraktioniert zu erhitzen oder im Autoklaven bei 120° ½ Std. Es wurde an verschiedenen Milchproben nachgeprüft, ob ein Unterschied zu verzeichnen war bei Verwendung von verschieden vorbehandelter Magermilch. Aus der nachfolgenden Tab. 2 ist ersichtlich, daß alle geprüften Bakterien längere Zeit zur Entfärbung benötigten in der Milch, die im Autoklaven sterilisiert war, als in fraktioniert erhitzter Milch. Milchproben verschiedener Herkunft zeigten dasselbe Verhalten.

Tabelle 2. Reduktion in verschieden sterilisierter Milch.

	Sterilisation		Differenz
	fraktioniert	Autoklav	
Str. lactis	3^{30}	5^{00}	1^{30}
„ cremoris	3^{50}	5^{30}	1^{40}
„ faecium	3^{45}	4^{25}	1^{00}
„ bovis	4^{15}	5^{00}	0^{45}
„ inulinaceus	2^{45}	3^{10}	0^{25}
„ thermophilus	4^{00}	5^{15}	1^{15}
Micrococcus Mf.	5^{00}	5^{00}	—
„ Mb.	3^{45}	6^{15}	2^{30}
„ Mc.	5^{30}	6^{15}	0^{45}
„ Md.	3^{45}	4^{30}	0^{45}
„ Me.	3^{50}	5^{00}	1^{10}
Bact. coli	4^{25}	6^{30}	1^{55}

Die Untersuchungen wurden in dem Reduktaseapparat der Firma Gerber (Leipzig) vorgenommen, bei dem man die Proben durch eine Glaswand dauernd beobachten konnte. Es fiel jedoch sehr bald auf, daß die dem Licht zugekehrte Seite der Gläser sehr viel früher abblaßte, als die dem Licht abgewandte Seite. Schließlich war die dem Licht zugewendete Seite schon völlig entfärbt, während der lichtabgewandte Teil noch blau erschien. Deshalb wurde bei den späteren Versuchen das Wasserbad vollkommen verdunkelt.

Neuerdings hat man gefunden, daß gewisse wasserlösliche Farbstoffe, die Lyochrome nach Ellinger und Koschara (20) und Wagner-Jauregg (42), eine erhebliche Rolle als Oxydationskatalysatoren im Zellstoffwechsel spielen. Da diese Farbstoffe auch in der Milch vorkommen, könnte man vermuten, daß die Beschleunigung der Reduktion des Methylenblaus vom Licht auf eine Verstärkung der Atmung zurückzuführen sei. Eigene Versuche ergaben, daß im Sonnenlicht bei gleichmäßiger Belichtung die Reduktionszeit in Rohmilch bei verschieden starker Beimpfung aus einer Milchsäurestreptokokken-Reinkultur stets die gleiche war.

Tabelle 3.

Kultur	Rohmilch Std.	+ 1 ccm Str. lactis Std.	+ 0,1 ccm Str. lactis Std.	+ 0,01 ccm Str. lactis Std.
Reduktionszeit	3^{35}	1	3	3^{20}

Die Abstufungen der Reduktionszeit im Dunkeln sind aus Tab. 3 ersichtlich. Im Licht war die Entfärbung in sämtlichen Kulturen schon in 35 Min. eingetreten. Es muß also überall der gleiche chemische oder physikalische Vorgang zugrunde liegen.

Unter Vermeidung der aufgezeigten Fehlerquellen wurde folgende Versuchstechnik angewandt. Aus den 18 Std. alten Milchzuckerbouillon-Kulturen mit Kreidezusatz wurde mit der Pipette die gewünschte Menge entnommen und in 9 ccm Magermilch, die im Dampftopf sterilisiert war, eingeimpft und dann bei 38° im verdunkelten Wasserbad bebrütet. Nach der Beimpfung wurde zu jedem Röhrchen 0,5 ccm einer Methylenblau-Lösung hinzugesetzt.

Als Stammlösung des Farbstoffes dienten die von H. Damm (17) empfohlenen Reduktole. Alle Kulturen wurden mit sterilem Paraffin überschichtet zur Fernhaltung der Luft.

3. Reduktionszeit bei verschiedenem Anfangskeimgehalt.

Unter Verwendung der soeben beschriebenen Untersuchungstechnik wurde zuerst in Reinkulturversuchen ausprobiert, wie sich die Reduktionskraft der Mikroorganismen bei verschiedenem Anfangskeimgehalt verhielt.

Untersucht wurden die für die Molkereipraxis wichtigen Arten. Von den Milchsäurebakterien die Milchsäurestreptokokken, mehrere Mikrokokken, an Gasbildnern Bact. coli und aerogenes, an Alkalibildnern Bact. fluorescens, prodigiosum und vulgare, außerdem einige Stämme aus der Alkaligenes-Gruppe, Bac. subtilis, eine Wein- und eine Milchzuckerhefe.

Die Mikrokokken wurden nach dem Verfahren von Claussen (15) isoliert. Rohmilch wurde mit 8% Kochsalz versetzt. Dadurch entstand nach 5 Tagen eine Anreicherung von salzresistenten Mikrokokken, die zur Weiterverarbeitung gelangten.

Die Versuchsresultate sind in der Tab. 4 wiedergegeben. Vier Gruppen von Bakterien heben sich heraus, die ein gutes Reduktionsvermögen besitzen, das sind die milchsäurebildenden Streptokokken, die Mikrokokken, Bact. coli und die Sporenbildner. Somit ergibt sich, daß diejenigen Bakterien, die bei 38—40° in Milch am besten wachsen, auch bei dieser Temperatur am besten reduzieren. Solche, die bei 38° schlecht wachsen, geben zwar oft bei hoher Keimzahl eine kurze Reduktionszeit, dafür fallen sie aber bei geringer Anzahl, bei Zahlen, die in der Rohmilch praktisch niemals erreicht werden, erheblich ab. Ferner fällt auf, daß, gegen die Rohmilch gemessen, eine erheblich höhere Anzahl von Keimen nötig ist, um in der gleichen Zeit eine Entfärbung zu bewirken. So braucht z. B. die Reinkultur von Str. lactis bei einer Keimzahl von $167 \cdot 10^4$ über 5 Std. zur Reduktion des Methylenblaus. Schärfer tritt dies noch hervor bei den Säure-Labkokken. Stamm Mc. würde nach dieser Zeit z. B. in die erste Klasse (Orla-Jensen) fallen, hat aber die sehr große Keimzahl von 3 Millionen im Kubikzentimeter. Um die Reduktion des Farbstoffes z. B. in 4 Std. zu bewirken, sind von Str. lactis oder Mikrococcus Md. weit weniger Zellen notwendig als von den anderen Bakterien.

4. Abhängigkeit der Reduktionskraft von der Wachstumsgeschwindigkeit.

Die beiden Erscheinungen, daß in Reinkulturen viel mehr Keime am Anfang notwendig sind als in der Rohmilch, um in derselben Zeit zu reduzieren, und daß wenige an die Milch als Nährboden angepaßte Organismen kräftiger reduzieren als andere, ist wohl zum größten Teil auf die Tatsache zurückzuführen, daß die Bakterien nach dem Überimpfen eine Periode der langsamen Entwicklung, die sog. „lag-period" der Amerikaner, überwinden müssen.

Daher wurde das Verhalten der Reinkulturen nach dem Einimpfen bis zum Eintritt der Reduktion nachgeprüft. Es wurden am Beginn des Versuches und alle Stunde 1 ccm Milch aus einer Parallelkultur zum Reduk-

Tabelle 4.
Reduktionskraft der Bakterien bei verschiedenem Keimgehalt.

Beimpfung	1 ccm		0,1 ccm		0,01 ccm		0,001 ccm	
	Reduktionszeit Std.	Keimzahl	Reduktionszeit Std.	Keimzahl	Reduktionszeit Std.	Keimzahl	Reduktionszeit Std.	Keimzahl
Str. lactis	0^{55}	$167 \cdot 10^{7}$	1^{50}	$167 \cdot 10^{6}$	3^{30}	$167 \cdot 10^{5}$	5^{10}	$167 \cdot 10^{4}$
,, cremoris	1^{00}	$97 \cdot 10^{7}$	2^{20}	$97 \cdot 10^{6}$	3^{50}	$97 \cdot 10^{5}$	4^{45}	$97 \cdot 10^{4}$
,, faecium	0^{50}	$156 \cdot 10^{7}$	2^{35}	$156 \cdot 10^{6}$	3^{45}	$156 \cdot 10^{5}$	4^{15}	$156 \cdot 10^{4}$
,, bovis	1^{00}	$30 \cdot 10^{7}$	2^{00}	$30 \cdot 10^{6}$	4^{15}	$30 \cdot 10^{5}$	5^{30}	$30 \cdot 10^{4}$
,, liquefaciens	1^{40}	$262 \cdot 10^{7}$	3^{00}	$262 \cdot 10^{6}$	4^{00}	$262 \cdot 10^{5}$	6^{00}	$262 \cdot 10^{4}$
,, inulinaceus	0^{55}	$190 \cdot 10^{7}$	1^{55}	$190 \cdot 10^{6}$	2^{35}	$190 \cdot 10^{5}$	3^{10}	$190 \cdot 10^{4}$
,, thermophilus	2^{40}	$232 \cdot 10^{4}$	3^{45}	$232 \cdot 10^{3}$	4^{15}	$232 \cdot 10^{2}$	6^{15}	—
Micrococcus a	0^{55}	$600 \cdot 10^{7}$	2^{45}	$600 \cdot 10^{6}$	3^{50}	$600 \cdot 10^{5}$	6^{30}	$600 \cdot 10^{4}$
,, b	0^{45}	$112 \cdot 10^{7}$	2^{15}	$112 \cdot 10^{6}$	4^{15}	$112 \cdot 10^{5}$	6^{15}	$112 \cdot 10^{4}$
,, c	1^{15}	$483 \cdot 10^{7}$	3^{10}	$483 \cdot 10^{6}$	5^{30}	$483 \cdot 10^{5}$	6^{30}	$483 \cdot 10^{4}$
,, d	0^{35}	$16 \cdot 10^{7}$	2^{10}	$16 \cdot 10^{6}$	3^{15}	$16 \cdot 10^{5}$	5^{30}	$16 \cdot 10^{4}$
,, e	0^{55}	$186 \cdot 10^{7}$	2^{35}	$186 \cdot 10^{6}$	3^{55}	$186 \cdot 10^{5}$	4^{15}	$186 \cdot 10^{4}$
,, f	1^{00}	$25 \cdot 10^{7}$	2^{45}	$25 \cdot 10^{6}$	5^{00}	$25 \cdot 10^{5}$	6^{15}	$25 \cdot 10^{4}$
Bacterium coli	1^{30}	$300 \cdot 10^{7}$	2^{40}	$300 \cdot 10^{6}$	4^{20}	$300 \cdot 10^{5}$	5^{30}	$300 \cdot 10^{4}$
,, aerogenes . .	4^{00}	$450 \cdot 10^{7}$	—	$450 \cdot 10^{6}$	—	—	—	—
,, fluorescens . .	5^{00}	$156 \cdot 10^{7}$	—	$156 \cdot 10^{6}$	—	—	—	—
,, prodigiosum .	5^{00}	$198 \cdot 10^{7}$	—	$198 \cdot 10^{6}$	—	—	—	—
,, vulgare . . .	1^{30}	$170 \cdot 10^{7}$	6^{15}	$170 \cdot 10^{6}$	—	—	—	—
Bacillus subtilis	1^{30}	$96 \cdot 10^{5}$	2^{30}	$96 \cdot 10^{4}$	3^{30}	$96 \cdot 10^{3}$	—	—
Weinhefe	5^{00}	$95 \cdot 10^{5}$	—	$95 \cdot 10^{4}$	—	—	—	—
Milchzuckerhefe.	6^{00}	$112 \cdot 10^{5}$	—	$112 \cdot 10^{4}$	—	—	—	—

taseröhrchen bis zur Vollendung der Entfärbung entnommen und der Plattenzählung unterworfen. Zum besseren Vergleich wurde die Ausgangskeimzahl in Tab. 5 in der Spalte 0 immer gleich 1 gesetzt und berechnet, wieviel Keime stündlich daraus entstanden waren. Die erhaltenen Zahlen wurden als „Vermehrungsfaktor“ eingetragen.

Tabelle 5. Vermehrung bis zur Reduktion.

	Redukt.-Zeit	Keimzahl nach Stunden: 0	1	2	3	4	5
Str. lactis a	3^{20}	$17 \cdot 10^5$	$60 \cdot 10^5$	$227 \cdot 10^5$	$1400 \cdot 10^5$	$9800 \cdot 10^5$	
Vermehrungsfaktor		1	3,6	13,2	82	570	
Str. lactis b	4^{25}	$60 \cdot 10^5$	$65 \cdot 10^5$	$80 \cdot 10^5$	$350 \cdot 10^5$	$1270 \cdot 10^5$	$1950 \cdot 10^5$
Vermehrungsfaktor		1	1	1,2	6	21	33
Microc. Md.	3^{45}	$18 \cdot 10^5$	$16 \cdot 10^5$	$146 \cdot 10^5$	$290 \cdot 10^5$	$830 \cdot 10^5$	
Vermehrungsfaktor		1	1	9	16	46	
Bact. coli	3^{20}	$50 \cdot 10^5$	$50 \cdot 10^5$	$116 \cdot 10^5$	$20 \cdot 10^7$	$350 \cdot 10^7$	
Vermehrungsfaktor		1	1	2,3	40	700	
Stamm g	5^{15}	$16 \cdot 10^5$	$29 \cdot 10^5$	$68 \cdot 10^5$	$115 \cdot 10^5$	$216 \cdot 10^5$	$620 \cdot 10^5$
Vermehrungsfaktor		1	1,7	4,2	7,2	13,5	38
Stamm h	4^{20}	$8 \cdot 10^5$	$29 \cdot 10^5$	$72 \cdot 10^5$	$80 \cdot 10^5$	$140 \cdot 10^5$	$352 \cdot 10^5$
Vermehrungsfaktor		1	3,6	9	10	17	44

Die Anfangskeimzahlen lagen bei allen geprüften Stämmen ungefähr in derselben Größenordnung. Um in einer Zeit von 4—5 Std. die Reduktion hervorzurufen, werden von den verschiedenen Bakterienarten bei ungefähr gleicher Ausgangskeimzahl nicht etwa ähnliche Mengen an Zellen verlangt, sondern es treten Unterschiede von Hunderten von Millionen auf, z. B. sind von Stamm h (Stamm g und h gehören zur Gruppe Bact. alcaligenes) 14,5 Millionen im Augenblick der Reduktion vorhanden und von Str. lactis a 340 Millionen. Man erkennt bei allen geprüften Stämmen, daß die Entfärbung erst nach Beginn lebhafterer Teilungstätigkeit, also nach Überwindung der „lag-period“, erfolgt. Str. lactis a und Bact. coli heben sich heraus, da sie schon bald nach der Einimpfung lebhafte Vermehrung aufweisen und dementsprechend auch eine kurze Reduktionszeit zeitigen. Str. lactis b ist ein weniger lebenskräftiger Stamm, die „lag-period“ ist verlängert, daher ist trotz gleicher Ausgangskeimzahl gegenüber Str. lactis a die Entfärbung hinausgezögert.

5. Gegenseitige Beeinflussung in Mischkulturen.

Es wird wohl niemals vorkommen, daß ein Bakterium als Reinkultur in der Rohmilch vorliegt, sondern es finden sich darin stets viele Arten, die sich in ihrer Wachstumsgeschwindigkeit in diesem Medium erheblich voneinander unterscheiden. Es wäre ja die Möglichkeit vorhanden, daß die Reduktion nur auf eine Bakterienart, die besonders gut wächst, zurückzuführen wäre.

Um hier Aufklärung zu schaffen, wurden Bact. coli und Mikrococcus Md. in verschiedenen Mengen mit Str. lactis in steriler Magermilch vermischt und die Veränderungen in der Keimzahl bis zum Eintritt

der Reduktion mit Hilfe der Plattenmethode gemessen. Die Ergebnisse sind in Tab. 6 niedergelegt.

Tabelle 6.

	Reduktionszeit		Keimzahl		Vermehrungsfaktor
	Reinkulturen	Symbiose	Anfang	Ende	
a					
Str. lactis	2^{20}	2^{00}	$21 \cdot 10^{6}$	$35 \cdot 10^{7}$	15
Bact. coli	6^{00}		$60 \cdot 10^{4}$	$80 \cdot 10^{5}$	15
b					
Str. lactis	2^{20}	1^{30}	$21 \cdot 10^{6}$	$25 \cdot 10^{7}$	13
Bact. coli	5^{00}		$50 \cdot 10^{5}$	$73 \cdot 10^{6}$	15
c					
Str. lactis	4^{00}	2^{30}	$20 \cdot 10^{5}$	$116 \cdot 10^{7}$	580
Bact. coli	5^{00}		$50 \cdot 10^{5}$	$93 \cdot 10^{7}$	19
d					
Str. lactis	2^{40}	1^{50}	$53 \cdot 10^{5}$	$37 \cdot 10^{7}$	69
Md.	6^{00}		$8 \cdot 10^{4}$	$2 \cdot 10^{5}$	2
e					
Str. lactis	2^{40}	1^{30}	$53 \cdot 10^{5}$	$25 \cdot 10^{7}$	47
Md.	3^{55}		$80 \cdot 10^{4}$	$23 \cdot 10^{6}$	29
f					
Str. lactis	4^{15}	3^{45}	$50 \cdot 10^{4}$	$26 \cdot 10^{7}$	520
Md.	3^{55}		$80 \cdot 10^{4}$	$105 \cdot 10^{6}$	131

Str. lactis wurde auf der Chinablaubouillon-Laktose-Agarplatte und *Bact. coli* auf der Endoplatte ausgezählt. Schwierigkeiten bereitete der Mikrococcus Md., da seine Kolonie stark dem des *Str. lactis* ähnelte. Eine Titermethode, bei der die Verdünnungen zu Röhrchen hinzugefügt wurden, die sterile Magermilch mit 7,5% Kochsalz enthielten, wurde als zu ungenau verworfen. Genauere Ergebnisse wurden erzielt durch Auszählen im gewöhnlichen Verdünnungsverfahren, wobei als Nährboden Chinablau-Laktosebouillon-Agar mit 7,5% Kochsalzzusatz diente. Die Bebrütung erfolgte bei 37° 5 Tage lang.

Aus der Tab. 6 ergibt sich, daß eine erhebliche Verkürzung der Reduktionszeit eingetreten ist, wenn ungefähr gleiche Mengen von *Str. lactis* und *Bact. coli* hinzugegeben sind. *Str. lactis* ebenso wie *Bact. coli* haben sich vermehrt, als wenn der andere Organismus überhaupt nicht zugegen gewesen wäre. Besonders hinzuweisen ist auf den Versuch c. Hier ist *Str. lactis* dem *Bact. coli* zu Anfang an Zahl unterlegen, doch ist allein auf ihn offenbar die Entfärbung zurückzuführen, da er einen Vermehrungsfaktor von 580 aufweist gegenüber *Bact. coli* mit 19. Wir sahen im vorigen Kapitel, daß auch *Bact. coli* sich in der Reinkultur oftmals teilen muß, bevor es entfärben kann. Hier hat es sich nur wenige Male vermehrt, wirkt jedoch anscheinend fördernd auf das Wachstum von *Str. lactis*, so daß dadurch eine Verkürzung der Reduktionszeit zu erklären ist.

Auch bei Vermischung von *Str. lactis* a mit Micrococcus Md. erleben wir ähnliches. Auffällig ist, daß das Wachstum des Micrococcus Md. hier anscheinend eine Anregung erfahren hat, denn hier beträgt sein Vermehrungsfaktor über 100 und in der Reinkultur nach 4 Std. erst 46. Trotzdem ist die Reduktion nicht erheblich beschleunigt, so daß wohl auch hier dem Streptococcus der überwiegende Einfluß zuzuschreiben ist.

Im ganzen gesehen aber ergibt sich, daß sowohl Bact. coli als auch der Micrococcus eine Beschleunigung der Reduktion des Farbstoffes hervorrufen, wenn man Str. lactis als Maßstab nimmt. Jedoch steht diese Verringerung der Entfärbungszeit in einem schlechten Verhältnis zur aufgewendeten Keimzahl. Fest steht, daß bei starkem Überwiegen von Bact. coli und des Micrococcus Md. sie im wesentlichen die Reduktionszeit bestimmen. Zieht man Rückschlüsse auf die Verhältnisse in der Rohmilch, so kann man sagen, daß der im Anfang erheblich überwiegende Teil der Bakterien die Reduktion bestimmt. Doch ist der Einfluß der Milchsäurestreptokokken wahrscheinlich erheblich größer auch bei geringerer Anzahl als bei umgekehrtem Verhältnis. Durch die Reduktionszeit auf die Art der Bakterien schließen zu wollen, ist durch diese Versuche als irrig erwiesen.

Die Bedeutung der Versuche dieses Kapitels ist durch die Tatsache gemindert, daß die verwendeten Bakterien eine unterschiedliche „lag-period“ besitzen, die sich, wie später gezeigt wird, in der rohen Milch anders auswirkt.

6. Hemmung der Reduktionskraft. Einfluß des Alters.

Wie schon in der Literaturübersicht betont wurde, hatte Rahn (32) als erster darauf hingewiesen, daß die Milchsäurebakterien erst in 5 Tage alten Kulturen sehr langsam entfärbten. Bei den anderen Bakterien sollte das Entfärbungsvermögen zunehmen. Es schien von Wert, hier genauer nachzuforschen, die Ergebnisse von Rahn zu bestätigen bzw. zu berichtigen oder zu erweitern. Zu diesem Zweck wurden die in Reinkulturen schnell reduzierenden Arten, also die Milchsäurestreptokokken, ein Micrococcus, Bact. coli und verschiedene Alkalibildner untersucht und die Entfärbungszeit dieser Kulturen in steriler Magermilch bestimmt. In der Tab. 7 sind die Ergebnisse verzeichnet.

Tabelle 7.

Verdünnung	1. Tag		2. Tag		9. Tag	
	unverdünnt Min.	1:10 Std.	unverdünnt Min.	1:10 Std.	unverdünnt Min.	1:10 Std.
Str. lactis		1^{25}		1^{30}		—
„ cromoris		1^{50}		2^{00}		—
„ liquefac.		2^{15}		3^{20}		72^{00}
„ faecium		1^{15}		4^{20}		—
„ bovis		6^{00}		—		—
„ thermoph.		3^{10}		5^{00}		72^{00}
Microc. Md.		1^{00}		1^{05}		22^{00}
Bact. coli	35	1^{30}	30	5^{15}	—	72^{00}
„ fluoresc.	45	3^{45}	30	3^{45}	—	5^{00}
Alkalig. l	20	2^{45}	12	2^{10}	10	2^{00}
„ g	25	2^{10}	25	1^{40}	5	1^{00}
„ h	4	0^{50}	6	1^{30}	6	2^{30}
„ i	10	2^{30}	5	1^{05}	2	26^{00}

Es sind deutlich 2 Gruppen unterscheidbar. Bei den Milchsäurestreptokokken und den anderen Säurebildnern tritt nach 48 Std. schon eine Verlängerung der Reduktionszeit ein. Die Alkalibildner dagegen verkürzen die Entfärbungszeit. Abweichend hiervon und auch von Rahns Unter-

suchungsergebnis verhielt sich Bact. fluorescens. Die Entfärbungskraft vermindert sich derart, daß in der 9 Tage alten Kultur keine Reduktion des Methylenblaus festzustellen ist. Auch in der Verdünnung 1 : 10 ist eine Verminderung der Reduktionskraft zu konstatieren. Das Maß der Verzögerung ist bei den empfindlichen Mikroorganismen am stärksten, z. B. entfärbt Str. bovis schon nach 2 Tage alter Kultur überhaupt nicht mehr. Für Bact. coli und Bact. fluorescens, deren Verhalten Rahn (32) als Beweis für seine Behauptung, daß die Reduktion mit dem Alter zunimmt, anführt, wurde ein gegenteiliger Befund erhalten. Zwar bei der Betrachtung der unverdünnten Kulturen ist zunächst eine Verkürzung der Entfärbungszeit erkennbar, jedoch nach genügender Anzahl von Tagen tritt auch hier keine Reduktion mehr ein. Hier kann man annehmen, daß der Nährboden erschöpft ist, denn in der Verdünnung, wo Wachstum möglich ist, tritt dann noch Reduktion ein. Die Fähigkeit zur Reduktion nimmt mit dem Alter sehr schnell ab, z. B. reduzierte Bact. coli am ersten Tage in 1^{30} Std., nach 9 Tagen benötigte es aber 72 Std. Dasselbe Bild zeigt Bact. fluorescens. Der von Rahn abweichende Befund ist wohl dadurch zu erklären, daß die Ausgangskultur bei Optimaltemperatur aufgestellt wurde, während Rahn sie bei Zimmertemperatur hielt.

Die Mikrokokken verhalten sich ähnlich wie die Milchsäurestreptokokken.

Daß die Bakterien der Alkaligenesgruppe ihre Entfärbungskraft nicht verlieren, sondern sogar verstärken, ist wohl darauf zurückzuführen, daß sie recht langsam wachsen und daß sie resistenter gegen ihre Stoffwechselprodukte sind.

Tabelle 8.

	Beginn	Reduktionszeit am 1. Tag Kreide		2. Tag Kreide		4. Tag Kreide		9. Tag Kreide	
		—	+	—	+	—	+	—	+
Str. lactis	0^{55}	1^{25}	0^{50}	0^{55}	0^{50}	9^{10}	1^{30}	—	1^{50}
„ cremoris	1^{00}	1^{50}	0^{55}	2^{00}	1^{10}	20^{00}	1^{30}	—	1^{45}
„ liquefac.	1^{40}	3^{15}	2^{15}	3^{20}	3^{00}	3^{05}	2^{20}	5^{00}	2^{30}
„ bovis	0^{60}	4^{15}	2^{00}	—	5^{30}	—	24^{00}	—	72^{00}
„ faecium	0^{50}	1^{25}	0^{50}	4^{20}	4^{00}	24^{00}	4^{00}	—	4^{00}
„ thermoph.	2^{40}	3^{10}	2^{30}	5^{00}	3^{15}	—	24^{00}	—	72^{00}
Bact. coli	1^{30}	4^{05}	3^{40}	4^{15}	3^{00}	4^{30}	3^{00}	—	3^{45}

Wenn man die Versuche überschaut, die über das Alter der Bakterien im Zusammenhang mit der Reduktionszeit gemacht worden sind, so fällt auf, daß bei den Milchsäurebakterien die Abschwächung der Entfärbungskraft am stärksten ausgeprägt ist. Da sie durch ihre Lebenstätigkeit selbst aus Milchzucker Milchsäure erzeugen, die durch Abspaltung von Wasserstoffionen und auch schon durch das Laktation (Orla-Jensen [31]) bakterienhemmend wirkt, so war es berechtigt zu vermuten, daß durch die Neutralisierung dieser Säure mit Kreide ein Teil seiner Wirkung aufgehoben werden würde. Zur Untersuchung dieser Verhältnisse wurde Magermilch mit und ohne Kreidezusatz beimpft aus den Reinkulturen der Milchsäurestreptokokken. Auf diese Weise entstand eine Parallelkultur von jedem

Streptococcus mit und ohne Kreidezusatz mit je gleich großer Keimzahl und von demselben Alter. Am nächsten Tage wurde in der üblichen Weise in der Verdünnung 1 : 100 die Reduktionszeit festgestellt. Tab. 8 enthält die Ergebnisse dieses Versuchs.

Es ist ersichtlich, daß bereits nach 24 Std. die schützende Wirkung des Kreidezusatzes zu konstatieren ist. Bei Str. lactis hatte sich die Reduktionszeit schon beinahe verdoppelt in der unbehandelten Kultur, während die neutralisierte Probe sogar einen Rückgang der Entfärbungszeit zeigte. Besonders kraß trat dieser Unterschied bei den empfindlichen Organismen auf, z. B. bei Str. bovis. Stölting (35) hat gezeigt, wie stark dieser Organismus von der Güte des Nährbodens beeinflußt wird. Str. bovis ist teilweise beweglich, verliert aber seine Geißeln schon innerhalb von 24 Std. Der Zusatz des Neutralisationsmittels schützt nicht ganz vor der schädlichen Wirkung der Stoffwechselprodukte. So tritt in der Probe mit Kreidezusatz nach 9 Tagen die Entfärbung erst am dritten Tage ein. Fast ebenso empfindlich ist Str. thermophilus. Str. lactis und Str. cremoris sind nach 9 Tagen unfähig zur Reduktion, jedoch sind sie in der Kreidekultur so wenig geschädigt, daß die Entfärbungszeit nur wenig verlängert ist gegenüber der frischen Kultur. Auch Bact. coli zeigte in der Reinkultur nach 9 Tagen keine Reduktion mehr. Für die Kreidekultur hingegen war die Reduktionszeit ungefähr gleich geblieben. Nach den Untersuchungen von Van Dam (41) ist der Stoffwechsel durch das Laktation gehemmt. Das gibt die Erklärung dafür, daß in den Kreidekulturen die Reduktionskraft trotz des konstanten p_H für die Streptokokken in der 9 Tage alten Kultur verzögert ist.

Für Str. lactis, der in der gewöhnlichen Kultur sein Reduktionsvermögen vollkommen verloren hat, wurde in einer genaueren Versuchsanordnung erwiesen, daß diese endgültige Abschwächung bei dieser Prüfung in der Verdünnung 1 : 100 erst am 4. Tage auftritt. Somit ergibt sich, daß einer Abschwächung der Milchsäurebakterien in der Praxis keine große Bedeutung zugemessen werden darf.

7. Bedeutung der Baktericidie.

Wir haben gesehen, daß in den Reinkulturen die Schnelligkeit der Reduktion von der Wachstumsgeschwindigkeit der Mikroorganismen abhängt. Die rohe Milch besitzt nun eine Eigenschaft, die sie befähigt, die Bakterien in ihrer Entwicklung zeitweilig zu hemmen, das ist die Baktericidie; sie äußert sich darin, daß während der ersten Stunden nach dem Melken vorhandene oder eingesäte Bakterien in ihrem Wachstum gehemmt oder gar teilweise vernichtet werden.

Es schien sich daher zu lohnen nachzuprüfen, ob und in welchem Maße ein Einfluß der Baktericidie auf die Reduktaseprobe zu verzeichnen sei. Zu diesem Zweck wurde aseptisch entnommene Milch beschafft. Sie enthielt 60 Keime im Kubikzentimeter, bestehend aus indifferenten Kokken und wenigen Corynebakterien. Zugefügtes Methylenblau wurde erst nach 50 Std. unvollkommen entfärbt. In dieser Milch wurde unter Zusatz der Reinkultur die Reduktaseprobe angesetzt. Ein Teil der aseptisch gewonnenen Milch wurde bei 90° 5 Min. lang pasteurisiert. Nach Drewes (19) sind dann die bakteriziden Substanzen zerstört. Eine Kontrollplatte ergab, daß in einem Kubikzentimeter kein lebender Keim mehr vorhanden war. Hiermit und auch in steriler Milch wurde parallel zur aseptisch gewonnenen Milch

mit den Reinkulturen in der Verdünnung 1 : 100 die Reduktaseprobe angesetzt. Die Ergebnisse sind in Tab. 9 verzeichnet. Geprüft wurden Milchsäurestreptokokken, Mikrokokken und Bact. coli.

Tabelle 9. Einfluß der Bakterizidie auf die Reduktionszeit.

Milch	Str. lactis	Str. cremoris	Str. liquefac.	Str. bovis	Str. faecium	Bact. coli
aseptisch	2^{45}	3^{00}	2^{45}	5^{30}	3^{30}	1^{50}
pasteurisiert . . .	1^{30}	1^{30}	2^{30}	3^{30}	2^{30}	2^{30}
steril	1^{40}	1^{45}	2^{00}	3^{00}	2^{00}	1^{30}
	Mf.	Ma.	Mb.	Mc.	Md.	Me.
aseptisch	2^{10}	2^{45}	1^{50}	3^{30}	1^{50}	3^{30}
pasteurisiert . . .	3^{30}	2^{30}	2^{30}	4^{15}	2^{45}	3^{30}
steril	2^{45}	2^{45}	2^{45}	3^{10}	2^{25}	2^{35}

Betrachten wir zunächst die Milchsäurestreptokokken, so stehen wir vor einem einheitlichen Bild. Alle geprüften Streptokokken werden in ihrem Wachstum ziemlich stark behindert, so daß die Reduktionszeit erheblich verlängert ist. Bact. coli zeigt gerade das umgekehrte Verhältnis. In der aseptischen Milch reduziert es in den geprüften Fällen schneller oder ebenso schnell wie in pasteurisierter Milch.

Ganz uneinheitlich verhalten sich die Mikrokokken. Zwei von den geprüften Stämmen, Micrococcus Mc. und Me., hatten eine längere Reduktionszeit in aseptischer Milch, verhalten sich also ähnlich wie die Milchsäurestreptokokken, drei hingegen entfärbten in der sterilen Milch erst später als in der aseptischen. Stamm Ma. zeigte keinen Unterschied. Unverständlicherweise reduzierten 5 Stämme Mf., Mb., Mc., Md. und Me. in der pasteurisierten Milch später als in der sterilen und auch in der aseptischen. Hier machte eine Ausnahme wieder der Stamm Ma., der in pasteurisierter Milch früher entfärbte als in den beiden anderen Milcharten.

Auch bei den Milchsäurebakterien ist keine durchgehende Regel zu erkennen, die das Verhalten in pasteurisierter und steriler Milch verständlich macht.

B. Entwicklung der Bakterien während der Reduktion des Methylenblaus in der Rohmilch.

1. Zusatz von Reinkulturen zu Rohmilch.

Es galt nun nachzuprüfen, wie die Verhältnisse in der rohen Milch während der Reduktaseprobe liegen, welchem Organismus aus dem Bakteriengemisch der Rohmilch vor allem die Entfärbung des Milchsäurebakteriums zuzuschreiben ist.

Zunächst wurden nach dem Vorgange von Hanke (22) einer normalen Rohmilch Reinkulturen zugesetzt. Jedoch wurde eine Rohmilch verwendet, die eine wesentlich längere Reduktionszeit aufwies, außerdem wurden abgestufte Mengen der Reinkulturen eingesät, so daß im Gegensatz zu Hankes Versuchen in den höheren Verdünnungen erst Wachstum eintreten mußte bis zur Vollendung der Entfärbung. In der Tab. 10 sind die Ergebnisse verzeichnet.

Tabelle 10. Zusatz von Reinkulturen zu Rohmilch.

Verdünnung	1 : 10		1 : 100		1 : 1000	
	Redukt.-Zeit	Keimzahl	Redukt.-Zeit	Keimzahl	Redukt.-Zeit	Keimzahl
Str. lactis a . . .	1^{00}	—	3^{00}	—	3^{20}	—
„ „ b . . .	0^{55}	$167 \cdot 10^7$	1^{50}	$167 \cdot 10^6$	3^{30}	$167 \cdot 10^5$
Str. bovis a . . .	1^{05}	—	3^{10}	—	3^{40}	—
„ „ b . . .	1^{00}	$30 \cdot 10^7$	2^{00}	$30 \cdot 10^6$	4^{15}	$30 \cdot 10^5$
Md. a	1^{20}	—	2^{35}	—	3^{20}	—
„ b	0^{35}	$16 \cdot 10^7$	2^{10}	$16 \cdot 10^6$	3^{45}	$16 \cdot 10^5$
Me. a	0^{30}	—	2^{35}	—	3^{10}	—
„ b	0^{55}	$186 \cdot 10^7$	2^{20}	$186 \cdot 10^6$	3^{55}	$186 \cdot 10^5$
Bact. coli a . . .	1^{40}	—	3^{00}	—	3^{30}	—
„ „ b . . .	1^{30}	$300 \cdot 10^7$	2^{40}	$300 \cdot 10^6$	5^{00}	$300 \cdot 10^5$
Hefe a.	0^{45}	—	2^{15}	—	3^{10}	—
„ b.	5^{00}	$95 \cdot 10^5$	—	$95 \cdot 10^4$	—	$95 \cdot 10^3$

Spalte a bedeutet Mischung der Rohmilch mit der entsprechenden Menge der Reinkulturen.

Spalte b gibt das Verhalten der Reinkulturen wieder.

Die Keimzahl der rohen Milch betrug $265 \cdot 10^4$ bei einer Reduktionszeit von 3 Std. 45 Min.

Für alle Proben ist eine Verkürzung der Reduktionszeit der Rohmilch eingetreten. In der ersten Verdünnung richtet sich die Entfärbungszeit im wesentlichen nach der Reinkultur, als ob die Flora der Rohmilch nicht zugegen wäre. Eine Ausnahme bildet die Hefe. In der Reinkultur reduziert sie erst nach 5 Std., hier aber sind nur 45 Min. notwendig. Es müssen also noch ungeklärte Einflüsse der Symbiose eine Rolle spielen.

Die Mikrokokken beteiligen sich auch recht kräftig an der Reduktion und beschleunigen die Entfärbung bis zur Verdünnung 1 : 1000. Doch ist hier noch eine so große Menge an Keimen notwendig, um eine deutliche Wirkung hervorzurufen, wie sie in der rohen Milch niemals vorkommt.

In der Verdünnung 1 : 100 kann man durchgehend feststellen, daß gegenüber den Reinkulturen eine Verlängerung der Reduktionszeit eingetreten ist. Die Verdünnung 1 : 1000 zeigt das umgekehrte Bild. Eine Erklärung bildet hier auch wohl wieder der Begriff der „lag-period". In der Verdünnung 1 : 10 wirkt sich noch die ungeheuer hohe Keimzahl aus, doch bei geringeren Keimzahlen ist anscheinend noch Wachstum der zugesetzten Reinkulturen notwendig, um die Reduktionszeit der Rohmilch zu verkürzen.

2. Verhalten einzelner Bakterienarten in der Rohmilch während der Reduktaseprobe.

Allen diesen Versuchen über die Reduktionszeit mit Reinkulturen haftet der Mangel an, daß die frisch eingesäten Bakterien, wie schon mehrfach betont, erst die „lag-period" überwinden müssen, bevor sie beginnen, lebhaft zu wachsen und dann zu reduzieren. Wie die Verhältnisse in der Rohmilch liegen, kann nur der Versuch entscheiden.

Um näheren Einblick zu bekommen, wurden 19 Rohmilchproben der Reduktaseprobe unterworfen. Auf Differentialnährböden wurde beim Ansetzen der Proben sowie sofort nach Eintritt der Entfärbung die Zahl der

Milchsäurestreptokokken, der Nichtsäurebildner, der Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe und der Mikrokokken im Kubikzentimeter nach dem Verdünnungsverfahren bestimmt.

Auf der Chinablau-Milchzucker-Bouillon-Agarplatte wurden alle blauen Kolonien mit einem Durchmesser unter 1 mm als Milchsäurestreptokokken angesehen, alle anderen als Nichtsäurebildner ausgezählt. Auf der Endoplatte konnte die Coli-Aerogenes-Gruppe gut erkannt werden. Ein Zusatz von 7,5% NaCl zu Chinablau-Milchzucker-Bouillon-Agar ermöglichte es, die säurebildenden Mikrokokken für sich allein zum Wachstum zu bringen, so daß sie ausgezählt werden konnten.

Zur Untersuchung kamen Milchproben mit möglichst abweichender Bakterienflora. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in der Tab. 11 aufgezeichnet. Als Gesamtsumme (c) ist dort die Anzahl der Säurebildner (a) und Nichtsäurebildner (b) bezeichnet. Für die Säure- und Nichtsäurebildner und auch für die Gesamtsumme wurde der Vermehrungsfaktor (a′, b′, c′) errechnet, bei dem die entsprechende Zahl zu Beginn des Versuches jedesmal gleich eins gesetzt ist.

Betrachten wir zunächst den Vermehrungsfaktor der Gesamtkeimzahl in Spalte c′, so sehen wir, daß er bei der kürzesten Reduktionszeit von 15 Min. gleich eins ist, d. h. es hat keine Vermehrung stattgefunden. Je länger die Zeit bis zur Entfärbung wird, desto größer wird auch der Faktor. Jedoch ist das Ansteigen nicht mehr regelmäßig, z. B. findet man bei gleichen Reduktionszeiten von 3 Std. 30 Min., daß ein Faktor 2 neben einem solchen von 337 möglich ist. Auch bei längsten Reduktionszeiten ist durchaus keine Regelmäßigkeit wahrzunehmen. So sehen wir für die Proben 18 und 19 einen Unterschied von fast 100 auftreten, wobei der höhere Wert sogar bei der kürzer reduzierenden Milch aufgefunden wurde. Diese Unregelmäßigkeiten weisen darauf hin, daß nicht alle Keime gleichmäßig zur Entfärbung beigetragen haben, sondern daß nur einzelne oder mehrere Gruppen von Bakterien durch schnelleres Wachstum die Reduktion herbeigeführt haben. Solche Proben mit großem Faktor lassen nach den Reinkulturversuchen zu urteilen die Vermutung aufkommen, daß Milchsäurestreptokokken oder auch Bact. coli bei der Entfärbung mitgewirkt haben. Etwas Licht in diese Verhältnisse wird die Besprechung der Faktoren der Säure- und Nichtsäurebildner bringen.

In der Spalte a′ für die Vermehrungsfaktoren der Säurebildner kann man ebenfalls dies Ansteigen von 1—550 verfolgen. Etwas aus dem Rahmen fällt die Probe 14, dessen Faktor für die ziemlich lange Vermehrungszeit von 3 Std. 55 Min. mit a′ = 4 sehr niedrig liegt.

Auch die Nichtsäurebildner (b′) schließen sich hier an, jedoch ist die Steigerung lange nicht so erheblich wie in den eben besprochenen Fällen.

Zieht man einen Vergleich zwischen den Vermehrungsfaktoren der Säure- und der Nichtsäurebildner, so erkennt man, daß die der Säurebildner meist erheblich größer sind als die der Nichtsäurebildner. Ein ganz krasses Beispiel liefert Probe 12 mit dem Faktorenverhältnis 249 : 3. Das deutet darauf hin, daß die Reduktion hauptsächlich durch die Milchsäurestreptokokken verursacht wird. Das trifft zunächst zu für die Milchproben, die eine normale Bakterienflora besitzen, z. B. Nr. 6, 13, 15, 18 und 19. Es ist nicht zu verkennen, daß die Milchsäurebakterien die anderen Bakterien in ihrem Wachstum überflügelt haben. Noch aufschlußreicher sind die Rohmilchproben mit überwiegendem

Tabelle 11.

Entwicklung der Bakterien während der Reduktaseprobe.

Nr.	Reduktionszeit	Keimzahl Anfang a	Anfang b	Anfang c	Anfang d	Anfang e	Ende a	a′	Ende b	b′	Ende c	c′	Ende d	d′	Ende e	e′	Klasse nach Keimzahl	Klasse nach Zeit	mehr Nichtsäurebildner
1	0^{15}	$224 \cdot 10^6$	$190 \cdot 10^5$	$243 \cdot 10^6$	$50 \cdot 10^2$	$90 \cdot 10^2$	$240 \cdot 10^6$	1	$18 \cdot 10^6$	1	$258 \cdot 10^6$	1	$6 \cdot 10^3$	1	$7 \cdot 10^3$	1			
2	0^{15}	$72 \cdot 10^6$	$230 \cdot 10^5$	$95 \cdot 10^6$	$40 \cdot 10^4$	—	$60 \cdot 10^6$	1	$120 \cdot 10^6$	1	$72 \cdot 10^6$	1	$75 \cdot 10^4$	1	—	—			
3	0^{30}	$72 \cdot 10^6$	$20 \cdot 10^5$	$74 \cdot 10^6$	—	—	$144 \cdot 10^6$	2	$150 \cdot 10^6$	1	$145 \cdot 10^6$	2	—	—	—	—			
4	0^{30}	$41 \cdot 10^6$	$130 \cdot 10^5$	$56 \cdot 10^6$	$30 \cdot 10^4$	—	$85 \cdot 10^6$	2	$23 \cdot 10^6$	2	$108 \cdot 10^6$	2	$51 \cdot 10^4$	1	—	—			
5	2^{10}	$55 \cdot 10^4$	$75 \cdot 10^4$	$130 \cdot 10^4$	$12 \cdot 10^4$	—	$80 \cdot 10^5$	15	$16 \cdot 10^4$	1	$96 \cdot 10^5$	7	$16 \cdot 10^4$	1	—	—			+
6	2^{30}	$48 \cdot 10^5$	$170 \cdot 10^4$	$65 \cdot 10^5$	$26 \cdot 10^3$	$100 \cdot 10^3$	$51 \cdot 10^7$	106	$36 \cdot 10^5$	2	$51 \cdot 10^7$	106	$50 \cdot 10^4$	19	$31 \cdot 10^4$	3	III	II	
7	3^{30}	$3 \cdot 10^5$	$50 \cdot 10^5$	$53 \cdot 10^5$	$13 \cdot 10^4$	—	$46 \cdot 10^5$	15	$50 \cdot 10^5$	1	$96 \cdot 10^5$	2	$20 \cdot 10^4$	1	—	—	III	II	+
8	3^{30}	$13 \cdot 10^4$	$23 \cdot 10^4$	$36 \cdot 10^4$	$70 \cdot 10^2$	—	$92 \cdot 10^5$	70	$21 \cdot 10^5$	9	$113 \cdot 10^5$	31	$15 \cdot 10^3$	2	—	—	I	II	+
9	3^{30}	$52 \cdot 10^4$	$28 \cdot 10^4$	$80 \cdot 10^4$	$23 \cdot 10^3$	$38 \cdot 10^3$	$16 \cdot 10^7$	308	$107 \cdot 10^6$	430	$27 \cdot 10^7$	337	$16 \cdot 10^4$	7	$9 \cdot 10^3$	1			
10	3^{30}	$30 \cdot 10^4$	$34 \cdot 10^4$	$64 \cdot 10^4$	—	—	$26 \cdot 10^5$	8	$108 \cdot 10^5$	31	$134 \cdot 10^5$	21	—	—	—	—			+
11	3^{30}	$84 \cdot 10^4$	$222 \cdot 10^4$	$307 \cdot 10^4$	$16 \cdot 10^2$	$16 \cdot 10^3$	$121 \cdot 10^6$	142	$45 \cdot 10^5$	2	$126 \cdot 10^6$	41	$60 \cdot 10^3$	38	$13 \cdot 10^1$	8	III	II	+
12	3^{35}	$39 \cdot 10^3$	$216 \cdot 10^4$	$216 \cdot 10^4$	—	—	$97 \cdot 10^5$	249	$92 \cdot 10^5$	3	$189 \cdot 10^5$	9	—	—	—	—			+
13	3^{50}	$250 \cdot 10^4$	$150 \cdot 10^3$	$265 \cdot 10^4$	$50 \cdot 10^2$	$13 \cdot 10^3$	$196 \cdot 10^6$	78	$40 \cdot 10^6$	2	$236 \cdot 10^6$	89	$70 \cdot 10^3$	14	$30 \cdot 10^4$	22			+
14	3^{55}	$42 \cdot 10^5$	$100 \cdot 10^3$	$42 \cdot 10^5$	$40 \cdot 10^2$	—	$168 \cdot 10^5$	4	$130 \cdot 10^4$	1	$180 \cdot 10^5$	25	$31 \cdot 10^3$	8	—	—	III	II	+
15	4^{00}	$232 \cdot 10^3$	$32 \cdot 10^3$	$264 \cdot 10^3$	—	—	$22 \cdot 10^6$	95	$120 \cdot 10^4$	37	$232 \cdot 10^5$	87	—	—	—	—	I	II	+
16	4^{15}	$108 \cdot 10^4$	$40 \cdot 10^4$	$112 \cdot 10^4$	—	—	$45 \cdot 10^6$	43	$80 \cdot 10^6$	200	$51 \cdot 10^6$	45	—	—	—	—			
17	4^{15}	$105 \cdot 10^3$	$14 \cdot 10^3$	$119 \cdot 10^3$	—	—	$43 \cdot 10^5$	47	$15 \cdot 10^5$	107	$64 \cdot 10^5$	54	—	—	—	—	I	II	
18	5^{30}	$60 \cdot 10^3$	$90 \cdot 10^3$	$150 \cdot 10^3$	$70 \cdot 10^3$	—	$33 \cdot 10^6$	550	$50 \cdot 10^5$	55	$38 \cdot 10^6$	253	$41 \cdot 10^5$	6	—	—			+
19	6^{30}	$67 \cdot 10^3$	$50 \cdot 10^3$	$72 \cdot 10^4$	—	—	$112 \cdot 10^6$	167	$50 \cdot 10^4$	100	$117 \cdot 10^5$	163	—	—	—	—			

Spalte a = Anzahl der Säurebildner
Spalte b = Anzahl der Nichtsäurebildner
Spalte c = Gesamtzahl der Keime

Spalte d = Anzahl von Bact. coli auf Endoagar
Spalte e = Zahl der Mikrokokken
a′, b′, c′, d′ enthalten die Vermehrungsfaktoren der betreffenden Keimarten

Anteil von Nichtsäurebildnern, das sind Nr. 5, 7, 8, 10, 11, 12 und 18. Gerade hier beträgt der Vermehrungsfaktor der Milchsäurestreptokokken ein Vielfaches gegenüber dem der Nichtsäurebildner. Man bekommt sogar den Eindruck, daß die Nichtsäurebildner innerhalb der Reduktionszeit kaum gewachsen sind, abgesehen in den Proben mit langer Entfärbungszeit, wo sie doch noch Gelegenheit hatten, sich mehrmals zu teilen. Sie können jedoch nicht in diesem Vermehrungsfaktor mit denen der entsprechenden normalen Proben konkurrieren.

Nun können wir auch den kleinen Vermehrungsfaktor der Gesamtkeimzahl der Probe 7 erklären. Hier waren ursprünglich sehr viele Nichtsäurebildner gegenüber nur wenigen kaum zählbaren Milchsäurebakterien vorhanden. Die Milchsäurebakterien vermehrten sich kräftig, die Nichtsäurebildner blieben jedoch träge, so daß ein Verhältnis der Faktoren von 15 : 1 entstand. Der Faktor der Gesamtkeimzahl hatte jedoch erst zwei erreicht und doch trat verhältnismäßig früh eine Reduktion ein auf Grund der Aktivität der Milchsäurebakterien. Nach der Ansicht von Rahn hätten die Nichtsäurebildner, als überwiegende Bakterienflora, die Reduktion verursachen müssen. Hier konnte aber in einfacher Weise gezeigt werden, daß nicht die überwiegend vorhandenen Keime, sondern daß die Milchsäurestreptokokken vor allem entfärbten, also die Bakterien, die am besten in der Milch wachsen.

Diese Verhältnisse mögen noch einmal von einer anderen Seite betrachtet werden. Bei der Zugrundelegung des alten Systems von Barthel (3) sehen wir, daß von den 19 Proben allein 7, das sind 36,8 %, nicht eingeordnet werden können. Gehen wir den Ursachen nach, so finden wir folgendes: Die Proben 8, 15 und 17 gehören der Keimzahl nach in die erste Klasse, aber der gefundenen Zeit nach in die zweite. Bei allen dreien ist ein sehr starkes Wachstum der Milchsäurebakterien zu beobachten, so daß frühzeitig eine Reduktion auftrat. Auch das Verhalten von Probe 6, 7, 11 und 14 ist verständlich. Hier trat der umgekehrte Fall ein. An und für sich der Gesamtkeimzahl nach zur dritten Klasse gehörig, kommen sie in die bessere Klasse, weil die Nichtsäurebildner fast inaktiv waren. Dagegen gehören sie der Zahl der Milchsäurebakterien nach in die erste oder zweite Klasse. Da die Stoffwechseltätigkeit der Milchsäurebakterien die Reduktionszeit im wesentlichen bestimmte, glitten sie von der dritten in die zweite Klasse.

Was die Coli-Aerogenes-Bakterien betrifft (s. Spalte d), so konnte in den geprüften Fällen niemals eine wesentliche Vermehrung derselben beobachtet werden; die Gruppe, die doch besonders viel Milchschädlinge enthält, tritt demnach als Ursache der Reduktion gar nicht in Erscheinung. Die geringe Wachstumsgeschwindigkeit läßt sich sehr wohl aus den Versuchen von Hüttig (24) über die Infektion der Milch mit Kuhkot erklären. Die sehr langen Reduktionszeiten bei hohem Keimgehalt führt er auf die Schwächung der Bakterien durch die Darmsäfte zurück. In den 5—7 Std. nach dem Melken, also innerhalb der Zeit des Ansetzens der Reduktaseprobe, haben sich die Colibakterien noch nicht erholt.

Bei der Auszählung der Endoplatten fiel es auf, daß die Gruppe des Bact. aerogenes, kenntlich an dem schleimigen Wachstum und dem geringen Säuerungsvermögen, sich in erheblich stärkerem Maße vorfand als die Colibakterien. Wie aus den Reduktionsversuchen hervorging, wirkte dieses Bakterium aber noch bei sehr großer Keimzahl auf den Farbstoff Methylenblau nur sehr schwach ein. Dies Resultat wurde noch auf andere

Weise nachgeprüft, indem nämlich am Anfang und am Ende der Reduktionsprobe der Colititer mit Hilfe von Gallepeptonlaktose-Gentianaviolett-Lösung bestimmt wurde. Der Titer stieg von 10^3—10^5 in Probe 16. Als jedoch die Menge CO_2 im Verhältnis zu Wasserstoff gemessen wurde, ergab sich, daß es dem Verhältnis entsprach, das für Bact. aerogenes charakteristisch ist. Auch zeigten Platten, die aus der Anreicherungsflüssigkeit gegossen wurden, fast nur Bact. aerogenes-Kolonien. Es ist also berechtigt, den Schluß zu ziehen, daß die Coli-Aerogenes-Gruppe kaum an der Reduktion des Methylenblaus in der Reduktaseprobe beteiligt ist.

Auch die salz- und hitzeresistenten Säure-Labkokken sollen nach der herrschenden Ansicht in der Rohmilch stark an der Reduktion des Methylenblaus mitwirken. Der Titer dieser Mikrokokken wurde mit Hilfe einer 7,5% Kochsalz enthaltenden, sterilen Magermilch vor und nach der Reduktion festgestellt für die Proben 6 und 17. In der Probe 17 zeigte sich, daß am Anfang und Ende derselbe Titer von 10^{-4} herrschte, so daß das Wachstum nur minimal gewesen sein konnte. Eine Beteiligung an der Reduktion ist also nicht zu verzeichnen. In Probe 6 wurde eine Dicklegung am Anfang bei 10^{-3} und am Ende bei 10^{-5} beobachtet. Bis 10^{-4} trat die Dicklegung schon nach 2 Tagen ein, bei 10^{-5} erst am 5. Tage. Das deutet darauf hin, daß in dieser Verdünnung äußerst wenig salzresistente Bakterien vorhanden waren, so daß auch hier ein wesentlicher Einfluß auf die Reduktion nicht zu erkennen ist.

Um jedoch genauere Zahlen zu erhalten, wurde bei den Proben 6, 9, 11 und 12 eine Keimzählung auf „Salz-Agarplatten" vorgenommen. Am Vermehrungsfaktor für die salzresistenten Kokken kann man erkennen, daß kaum ein Wachstum stattgefunden hat. Außerdem ist schon die Zahl der Kokken sehr beschränkt, so daß ein Einfluß auf die Reduktionszeit kaum anzunehmen ist.

Zum Schluß wäre noch auf eine sehr große Gruppe von Mikroorganismen hinzuweisen, die in der Reinkultur bei sehr geringer Keimzahl schon eine schnelle Entfärbung hervorruft, das sind die Bazillen. Auf den Zählplatten sind kaum Kolonien der Sporenbildner zu entdecken, so daß sie wohl für die Reduktaseprobe ganz ausfallen.

Nun wollen wir sehen, wie sich die Erkenntnisse der Reinkulturversuche über die Baktericidie auf die Rohmilch anwenden lassen. In der Rohmilch können die baktericiden Stoffe nur in solcher vorhanden sein, die bald nach dem Melken in die Meierei gelangt. Mit solcher Morgenmilch wurde 2½ Std. nach dem Melken die Reduktaseprobe angesetzt. Das Ergebnis ist in Tab. 12 niedergelegt. Die Abendmilch desselben Lieferanten vom selben Tage wurde ebenfalls der Reduktaseprobe unterworfen, außerdem wurden die Morgen- und Abendmilch in verschiedenen Verhältnissen vermischt und in gleicher Weise die Reduktaseprobe vorgenommen. Von drei Proben wurde die Anfangs- und Endkeimzahl auf der Chinablauplatte festgestellt und getrennt die Säure- und Nichtsäurebildner ausgezählt.

Die Abendmilch hat eine sehr hohe Keimzahl und entfärbt auch dementsprechend schnell, dagegen besitzt die Morgenmilch wenig Bakterien und reduziert daher sehr langsam, wobei wir wieder sehen, daß die Milchsäurebakterien die Hauptursache sind, da ihr Vermehrungsfaktor a′ verhältnismäßig groß ist. Betrachten wir nun die Reduktionszeiten der Mischungen! Hat man gleich viel von beiden Milchproben vermischt, so erfolgt nur eine

Tabelle 12.

	A	M	A + M 5 : 5	A + M 7 : 3	A + M 3 : 7	A + M 1 : 9
Reduktionszeit	0^{15}	5^{40}	0^{30}	0^{20}	0^{45}	1^{15}
Keimzahl:						
Anfang: a . . .	$72 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^4$				
b . . .	$23 \cdot 10^6$	$9 \cdot 10^4$				
c . . .	$95 \cdot 10^6$	$15 \cdot 10^4$				
Ende: a	$70 \cdot 10^6$	$33 \cdot 10^6$				
a′	1	500				
b	$18 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$				
b′	1	55				
c	$88 \cdot 10^6$	$38 \cdot 10^6$				
c′	1	253				

A = Abendmilch
M = Morgenmilch
a = Säurebildner
b = Nichtsäurebildner
c = Gesamtkeimzahl
a′, b′, c′ sind die Vermehrungsfaktoren der entsprechenden Keimarten.

sehr geringe Verlängerung der Reduktionszeit der Abendmilch von 15 Min. auf 30 Min., liegt aber der Keimzahl nach mit 36 Millionen in der 4. Klasse. Bei Zusatz von 1 ccm der Abendmilch zu der Morgenmilch (letzte Spalte) hätte man eine etwas längere Entfärbungsdauer erwarten können. Zumindest zeigt das letzte Ergebnis, daß die Baktericidie keinerlei Einfluß ausübt, wenn Morgen- und Abendmilch vermischt werden. Die Qualität der Morgenmilch wird auf diese Weise stark herabgesetzt, was sich auch in der Reduktaseprobe entsprechend ausdrückt.

C. Bedeutung der Reduktaseprobe.

Wenn man eine Qualitätsbewertung der Milch vornehmen will, so ist es unerläßlich, neben anderen auch die bakteriologische Beschaffenheit der Milch in Erfahrung zu bringen. Nun ist die Beurteilung der Qualität doch recht relativ. Sie richtet sich nach dem Verwendungszweck und nach der Weiterverarbeitung der Milch. Oft sind gerade diejenigen Bakterien in großer Anzahl vorhanden, die zur Fertigstellung von Molkereierzeugnissen notwendig sind. In diesem Fall kann man die Milch wegen des Keimreichtums nicht als minderwertig bezeichnen.

Es soll einmal untersucht werden, ob und wieweit die Reduktaseprobe Aufschluß geben kann über die bakteriologische Eignung der Milch bei ihrer verschiedenen Verarbeitung.

Ein großer Teil der angelieferten Milch wird als Trinkmilch verbraucht. Erforderlich ist vor allem eine gute Haltbarkeit. Hier hat sich die Reduktaseprobe weitgehend bewährt (Hastings 23).

Da für die Haltbarkeit der Milch die Milchsäurestreptokokken ausschlaggebend sind, ist es gerecht, wenn derjenige Lieferant seine Milch schlechter bezahlt bekommt, der nicht für saubere Behandlung und gute Kühlung sorgt. Andere dagegen, die sich dieser Mühe unterziehen, können dafür auch den entsprechenden Lohn fordern, der ihnen gewährt werden muß, da sonst der Anreiz fehlt.

Ein anderer großer Teil der Milch wird der Erhitzung unterzogen, bevor er in den Verkehr gebracht wird. Es fragt sich nun, ob dann noch eine Reduktaseprobe einen Sinn hat, da doch der größte Teil der Bakterien durch das Erhitzen abgetötet wird. Es sind gerade diejenigen Bakterien, die den Molkereiprodukten kaum Schaden zufügen, die gegen die Hitze am empfindlichsten sind. Sie bestimmen auch größtenteils das Reduktasebild. Dagegen überstehen vor allem die schädlichen Sporenbildner und die hitzefesten Mikrokokken die Erhitzung, und gerade diese Organismen tragen wenig zur Entfärbung bei. Es entspricht jedoch der Erfahrung, wenn man annimmt,

daß unsaubere Gewinnung und schlechte Kühlung der Milch meist Hand in Hand gehen. Schlechte Kühlung zieht aber eine schlechte Reduktaseprobe nach sich. Wenn dem Lieferanten eine solche Milch anstandslos abgenommen wird, so wird er immer unsorgfaltiger arbeiten. Man muß auch berücksichtigen, daß eine fehlerhafte Milch nach der Erhitzung doch nicht der Qualitat der aus guter Milch hergestellten Ware entspricht. Daher scheint es gerechtfertigt und notwendig, auch hier eine Bezahlung nach dem Ausfall der Reduktaseprobe vorzunehmen.

Erhitzte Milch wird meist auch in der Butterei verwendet. Aus der Praxis hört man oft, daß in diesem Fall die Reduktaseprobe unnotig wäre. Die Milch könnte vor dem Erhitzer noch so bakterienreich sein, das erhaltene Produkt, die Butter, sei trotzdem von hervorragender Güte. Dagegen ist einzuwenden, daß bakterienreiche Milch meistens durch unsaubere Behandlung und schlechte Kühlung entstanden ist. Diese Milch ist vom hygienischen Standpunkt aus zu verwerfen. Wenn in diesem Fall die Qualitätsbezahlung nach dem Bakteriengehalt herangezogen wird, so soll sie hier dazu erziehen, sorgfältig gewonnene Milch zu liefern, ganz abgesehen von der Qualität des aus dieser Milch hergestellten Produktes.

Abzulehnen ist die Reduktaseprobe, wenn man sie verwenden wollte, um mit ihrer Hilfe Käsereimilch auszusuchen. In der Käserei will man vor allem darüber unterrichtet sein, ob in der zur Verarbeitung gelangenden Milch Bakterien vom Typ der Coli-Aerogenes-Gruppe vorhanden sind. Diese können jedoch nicht durch die Reduktaseprobe erkannt werden. In Verbindung mit der Gärprobe kann sie jedoch darüber Aufschluß geben, ob eine genügende Anzahl von Milchsäurebakterien zugegen ist.

Es ergibt sich also, daß die Reduktaseprobe kein Universalmittel ist, um die bakteriologische Beschaffenheit einer Milch festzustellen. Sie muß vielmehr verständnisvoll für jedes Aufgabengebiet besonders gewertet werden. Sehr oft wird es notwendig sein, andere besser auf den speziellen Zweck eingestellte Methoden ergänzend heranzuziehen.

D. Der Mechanismus der Reduktion.

1. Literatur.

Die Mechanik der Reduktion während der Reduktaseprobe ist ein Problem, das schon seit der Entdeckung der bakteriellen Reduktion die Autoren beschäftigt hat. Zur Erzeugung der Leukobase des Methylenblaus dienen 2 Atome Wasserstoff. Die Frage nach der Herkunft dieses Wasserstoffes ist ein umstrittener Punkt in der wissenschaftlichen Diskussion. Zur Klarstellung des Problems ist es erforderlich, die wesentlichsten Vorstellungen, die über die Reduktion in der Milch aufgetaucht sind, anzuführen.

Es standen drei Möglichkeiten der Mechanik der Reduktion zur Debatte, erstens ob die Milch selbst, dann ob die Bakterien selbst oder ob ein Ferment die Entfärbung hervorrief.

Die meisten der älteren Autoren machten die Bakterien dafür verantwortlich [Smidt (36), Brand (10), Seeligmann (37), Orla-Jensen (29), Sommerfeld (38), Barthel (1)]. Daneben wurden auch noch Abbauprodukte des Milchzuckers [Neißer und Wechsberg (28)] oder des Kaseins [Seeligmann (37)] in Betracht gezogen. Andere glaubten, daß die Bakterien ein Enzym „Reduktase" absondern [Brand (10), Orla-Jensen (29), Fred (21)]. Doch fehlen auch nicht Hinweise auf die Fähigkeit der Nährböden zur Reduktion [Roszaheghyi (33), Baginski (6), Fr. Müller (27), A. Wolff (45), Carapelle (12)].

Burri und Kürsteiner (11) beseitigten alle Zweifel an der bakteriellen Ursache der Reduktion in der Milch, indem sie durch Zusatz von Desinfektionsmitteln die Bakterien abtöteten und dann beobachteten, daß jegliche Reduktion ausblieb. Sie stellen die Existenz einer der Milch eigenen „Reduktase" in Abrede.

Barthel (3) untersuchte systematisch die Abhängigkeit der Reduktionszeit vom Sauerstoffgehalt der Milch. Er leitete indifferente Gase (N_2, CO_2) durch die Milch, so daß der Sauerstoff entfernt wurde, und sah, daß die Entfärbung erheblich früher gegenüber der unbehandelten Probe eintrat. Er stellte daher die folgende Theorie auf: „Die Entfärbung des Milchsäurebakteriums in Milch verläuft in 2 Phasen, in der 1. wird

der in der Milch gelöste Sauerstoff von den Bakterien verzehrt und in der 2. entfärbt sich das Milchsäurebakterium durch in der Milch selbst befindliche Stoffe."

In einer späteren Arbeit machte Barthel (4) die Succinate und Zitrate der Milch für die Reduktion verantwortlich. Die Milchsalze sollten als Katalysatoren der Reduktion dienen.

Thornton and Hastings (40) haben es sich neuerdings zur besonderen Aufgabe gemacht, die Theorie von Barthel zu erharten. Sie schreiben: „All of our work tends to confirm the theory of Barthel that the disappearance of methylene blue in the reduction test in milk takes place in two stages, viz: (1) the removal of the dissolved oxygen by bacteria, (2) the reduction of the dye by constituents of the milk." Sie beobachteten, daß Milch, die 1 Std. lang auf 120° erhitzt worden war (at 15 pounds = 1 atü), Methylenblau in 1 Std. 50 Min. reduzierte.

Auch rohe Milch, aus der der Sauerstoff vermittels Durchleiten von H_2, CO_2 oder N_2 entfernt worden war, reduzierte in kurzer Zeit. Thornton and Hastings ziehen daraus den Schluß, daß der Milch diese Reduktionskraft schon beim Verlassen des Euters innewohnt. Nur der in die frische Milch hineindiffundierende Sauerstoff soll die Reduktion des Methylenblaus verhindern. Die Annahme, daß Enzyme die Reduktion des Methylenblaus bewerkstelligen, sei überflussig. Sie betrachten vielmehr mit Barthel die Milchsalze als Katalysatoren. Die Entfärbung des Methylenblaus in roher Milch bei Abwesenheit von Sauerstoff soll teilweise verursacht werden durch Zitrate, Succinate und Cystein. Doch glauben sie, daß auch noch andere unbekannte Substanzen an der Reduktion teilnehmen. Wenn auch nach ihrer Ansicht die Bestandteile der Milch vor allem die Entfärbung hervorrufen, so können sie nicht umhin, anzuerkennen, daß auch die Bakterien reduzieren können und stellen deswegen eine eigene Theorie auf, wobei sie davon ausgehen, daß gut ausgewaschene Bakteriensuspensionen nicht reduzieren können: Alle organischen Komplexe könnten Sauerstoff aufnehmen, wie auch alle Nährmedien. Ein kleiner Teil vom Nährboden bleibe bei der Herstellung von Bakteriensuspensionen an den Zellen adsorbiert, der sich mit dem mehrmaligen Waschen immer mehr vermindere. Auch unter den Zellbestandteilen sollen solche vorhanden sein, die den Bestandteilen der Nährböden ähneln. Diese sollen herausdiffundieren und so die reduzierende Kraft der Lösung vermehren. Das Waschen vermindere diese wasserlöslichen Zellinhaltskörper.

2. Gibt es eine Eigenreduktion der Rohmilch?

Thornton und Hastings hatten die Zitrate, Succinate und Cystein für die Reduktion in der rohen Milch verantwortlich gemacht. Dem ist der Befund von Schwarz (34) entgegenzuhalten, daß Zitronensäure auf 120° erhitzt in nicht näher charakterisierte Stoffe zerfällt, die befähigt sind, Methylenblau zu reduzieren. Auch konnte Schwarz feststellen, daß durch das Erhitzen Zersetzungsprodukte der Milcheiweißkörper, z. B. H_2S und niedermolekulare Abbauprodukte entstehen, die die Entfärbung des Farbstoffes bewerkstelligen können. So ist auch die Tatsache zu erklären, daß Lakmusmilch reduziert ist, wenn sie aus dem Autoklaven kommt. Jedoch muß im Gegensatz hierzu betont werden, daß normale rohe Milch keine Stoffe in genügender Menge enthält, die spontan Methylenblau zu reduzieren vermöchten. Ein Versuch, der später bei der Besprechung des Einflusses des Cysteins beschrieben werden wird, ist dafür ein klarer Beweis.

Allerdings erreichten Thornton und Hastings bei Zusatz von Cystein eine erhebliche Verkürzung der Reduktionszeit. Man könnte zunächst daran denken, daß hier der gesuchte Stoff vorläge, der spontan nach der Entfernung des Sauerstoffs den Farbstoff hydriere, da er in jeder Milch, wenn auch in sehr kleinen Mengen, vorkommt.

Es liegt hier ein Thiosystem vor. Das Cystein hydriert spontan Methylenblau, Methylenblau hydriert wieder spontan Luftsauerstoff. Der direkte Weg des Wasserstoffs zum Sauerstoff ist versperrt, da die ... S—H—H—S ... - Gruppe des Cysteins seinen Wasserstoff nur an aktiven Sauerstoff abgibt. Es ist aber nur molekularer Sauerstoff in der Milch vor-

handen, da eine Hemmung der Reduktion durch HCN nicht zu beobachten ist, so daß ein Eisensystem der Oxydation im Sinne Warburgs nicht anzunehmen ist. Das gesamte Methylenblau könnte reduziert werden, wenn das vorhandene Cystein ausreicht. Falls weniger Methylenblau zugegen ist als dem Cystein, das in der Milch vorhanden ist, entspricht, so gibt es seinen Wasserstoff an molekularen Sauerstoff weiter, würde also regeneriert und so als Wasserstoff-Überträger wirken, zuletzt aber reduziert bleiben. Cystein würde zu Cystin (R—S—S—R) dehydriert.

Wenn man das Wirken von Enzymen in Abrede stellt, müßte die Reduktion jetzt zum Stillstand kommen, da Cystin unlöslich aus der Reaktion ausscheidet. Die Konzentration des Methylenblaus beträgt hier 1 : 200 000 und die des Cysteins 1 : 1000. Das Methylenblau ist also nur 1 : 6389 normal und Cystein 1 : 121 normal. Cystein ist in dem Versuch von Thornton und Hastings im Überschuß vorhanden. Damit ist die Verkürzung der Reduktionszeit durch Zusatz von Cystein genügend erklärt.

Wenn man jedoch die Wirkung der Enzyme nicht ausschließt, dann ist der Weg noch nicht zu Ende, denn die R—S—S—R-Gruppe kann bekanntlich nur zellvertraute Stoffe, wie Bernsteinsäure, dehydrieren, könnte also im Stoffwechsel „oxydierend" wirken. Jetzt ist das Cystein mittels eines Enzyms wieder regeneriert und kann seinerseits den labilen Wasserstoff an Methylenblau abgeben. Hier wird im allgemeinen keine besondere Dehydrase angenommen. Nun kann der Kreislauf von vorn beginnen. Aber Cystin dehydriert Bernsteinsäure usw. nur bei Gegenwart von Zellen, also nur, wenn das dehydrierende Ferment Succinodehydrase vorhanden ist, das S—H.-System wirkt nicht als Dehydrase. Es nimmt nur aktivierten Wasserstoff auf. Cystein wirkt also auf jeden Fall beschleunigend auf die Reduktion des Methylenblau in der Milch ein.

Wenn nun auch diese Aminosäure in der rohen Milch vorkommt, so reicht die Menge doch nicht aus, um nach der Entfernung des Sauerstoffs rein chemisch eine Eigenreduktion zu übernehmen.

Bisher ist es nicht gelungen, nachzuweisen, ob der rohen Milch reduzierende Eigenschaften überhaupt zuzusprechen sind. Obwohl jede Milch schon infiziert ist, wenn sie das Euter verläßt [Henneberg (24)], hatten sich bisher die Autoren damit begnügt, den Sauerstoff zu entfernen und schlossen aus der Beschleunigung der Reduktion auf die Eigenreduktion der Milch. Der Nachteil hierbei war jedoch, daß der Einfluß der Bakterien nicht genügend berücksichtigt wurde. In frischer und auch älterer Milch mit hohem Keimgehalt wurden deswegen zur Untersuchung dieser Verhältnisse die Bakterien durch Phenol, Toluol und Chloroform abgetötet. Der Sauerstoff wurde entfernt durch Auspumpen mit einer Ölkapselpumpe. In einem zweiten Versuch wurde der Sauerstoff mittels Durchleiten von reinem Wasserstoff ausgetrieben. Der Wasserstoff wurde durch eine Sublimatlösung geleitet zur Entfernung von H_2S, dann durch alkalische Pyrogallollösung zur Entfernung von mitgeführtem Sauerstoff.

Es ergab sich, daß in den Proben mit abgetöteten Bakterien ohne Sauerstoff in keinem Fall eine Reduktion bei 38° eintrat. Die beiden unbehandelten Kontrollen reduzierten im ersten Fall in 6 Std., im zweiten in 30 Min. Durch das Auspumpen verkürzte sich diese Zeit auf 30 bzw. 10 Min. Ähnliche Verkürzungen konnten beim Durchleiten von Wasserstoff beobachtet werden. Hiermit ist also der Meinungsstreit dahin entschieden, daß die Rohmilch keine Substanzen oder freie Enzyme enthält, die Methylenblau reduzieren können.

Jedoch ist nicht zu verkennen, daß unter Druck erhitzte Milch oder andere bakteriologische Nährmedien die Fähigkeit der Eigenreduktion besitzen, wie auch folgender Versuch bewies: 100 ccm Bouillonagar wurden in einem hohen, schmalen Glaskolben unter Zusatz von Methylenblau im Wasserbad 3 Std. lang gekocht, dann mit Paraffin überschichtet, so daß der ausgetriebene Sauerstoff nicht wieder eindringen konnte und bei 37° aufgestellt. Nach 36 Std. war Entfärbung eingetreten. Im Verlauf des 3stünd. Kochens war noch keine Reduktion eingetreten, was ein bezeichnendes Licht auf die Langsamkeit der Reaktion wirft.

Also auch schon wegen der Langsamkeit der Reaktion ist der zweite Teil der Theorie von Barthel unhaltbar.

Von einer anderen Seite aus kann man Barthels Theorie auch beleuchten: Thornton und Hastings gingen bei dem Zusatz von Cystein von der Vorstellung aus, daß die Eigenreduktion verkürzt sein sollte. Wenn man aus der Rohmilch den Sauerstoff durch Auspumpen entfernt, so wäre die Zeit, in der dann die Entfärbung einträte, als Höchstwert der Eigenreduktion anzusprechen. In einem Versuch entfärbte eine Rohmilchprobe in 7 Std., beim Ansetzen der Probe wurde in einer Parallelkultur der Sauerstoff entfernt. Hier trat die Reduktion in 45 Min. ein. 6 Std. 15 Min. waren dann nach Barthels Theorie zur Sauerstoffzehrung notwendig gewesen. Bei Zusatz von Cystein (1 : 1000) trat jedoch in derselben Probe schon die Entfärbung nach 3 Std. ein, ohne daß der Sauerstoff entfernt war. In dieser Zeit war also auch der Sauerstoffverbrauch der Bakterien und die Eigenreduktion der Milch + Cystein eingeschlossen. Wenn man nun annimmt, daß das Cystein die Eigenreduktion verkürzt, so hätte man in dem Versuch mit Cystein keine kürzere Reduktionszeit als 6 Std. 15 Min. erwarten dürfen, da diese Zeit, wie aus dem obigen Versuch hervorgeht, zur Sauerstoffzehrung beansprucht wird. Es ergibt sich also, daß Cystein nicht die gesuchte Substanz sein kann, die eine evtl. vorhandene Eigenreduktion der Rohmilch verursacht.

Tatsächlich sieht der Vorgang wohl folgendermaßen aus:

Das Cystein gibt seinen leicht beweglichen Wasserstoff spontan an das Methylenblau weiter und reduziert dieses zu Leukomethylenblau. Leukomethylenblau wird von dem in Lösung vorhandenen Sauerstoff oxydiert. Das Methylenblau dient als Wasserstofftransporteur. In der Summenformel erscheint es jedoch nicht mehr. Aus dem Cystein entsteht Cystin, das unlöslich aus der Reaktion ausscheidet. So kann die Umsetzung quantitativ in einer Richtung verlaufen, so daß eine Menge von Sauerstoff und Methylenblau am Ende reduziert ist, die äquivalent dem Cystein ist.

Es kann nach diesen Erörterungen als feststehend angesehen werden, daß in der rohen Milch keine sog. Eigenreduktion zu verzeichnen ist.

3. Bakterien als Ursache der Reduktion.

Es soll in rein qualitativen Versuchen erwiesen werden, daß die Methylenblau-Reduktion in engem Zusammenhang mit dem Energiestoffwechsel der Bakterien steht. Durch Zusatz von Substanzen ohne Stickstoff, hauptsächlich Zucker und nahestehenden Stoffen zu sog. „ruhenden Bakterien“ nach Quastel und Whetham (31) soll deren Aktivierung geprüft werden. Die Bakteriensuspensionen wurden nach Quastels Vorschrift hergestellt. Diese wurden vermischt mit 4 ccm einer 0,01proz. Kohlehydratlösung, der 1 ccm n/15 Phosphatpuffer mit dem $p_H = 6{,}8$ hinzu-

gesetzt war. Es wurden immer zugleich zwei Reihen aller Kohlehydratlösungen angesetzt. In der einen ermöglichte Lakmus als Indikator die Prüfung auf Säuerung, in der anderen diente Methylenblau in der Konzentration 1 : 400 000 als Indikator der Reduktionsfähigkeit. Der Sauerstoff wurde durch eine Ölpumpe soweit wie möglich entfernt. Abgelesen wurde nach 18 Std. und, wenn nötig, nach 40 Std. Die Ergebnisse sind in Tab. 13 niedergelegt.

Es fällt auf, daß bei allen 5 geprüften Stämmen die Säuerung und die Reduktion ausnahmslos Hand in Hand gehen. Da nun diese „ruhenden Bakterien" sich nicht vermehren [Q u a s t e l (31)], so ist auch die Ansicht von F r e d (20) hinfällig, daß die Reduktion in der rohen Milch an die Vermehrung der Bakterien gebunden ist.

Tabelle 13. Säuerung von Kohlehydraten und Reduktion von Milchsaurebakterien durch „ruhende Bakterien".

	Str. lactis				Str. cremor.				Str. faecium				Str. bovis				Bct. coli			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Fruktose	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	(+)	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
Maltose	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	(+)	—	—	—		—	—	—	+	—	—	—	±	+	+	+	+	+	+	+
Stärke	(+)	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—		—	—	—
Dextrin	(+)	—	—	—		—	—	—		—	—	—		—	—	—		—	—	—
Inulin	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	+	—	—	—		—	—	—
Arabinose	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	+	+		+	+	+
Xylose	—	—	+	+	—	—	—	—	(+)	+	—	—	+	—	+	+	+	+	+	—
Rhamnose	—	—	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—		—	—	—		—	—	+
Mannit	(+)	+	+	+		—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+
Sorbit		+	+	+		—	+	+	+	—	—	—		—	—	—	+	+	+	+
Glyzerin		—	—	—		—	—	—	+	—	—	—		—	—	—	+	—	+	+
Salizin	(+)	+	+	+	+	—	+	+		+	+	+		—	+	+		—	+	+
Kontrolle			—	—			—	—			—	—			—	—			—	—

Spalte 1 = Sauerung der Kohlehydrate nach O r l a - J e n s e n.
„ 2 = Sauerung der Kohlehydrate, die auf Chinablaukohlehydratbouillonagar gefunden wurde.
„ 3 = Umschlag von Lackmus nach rot durch „ruhende Bakterien" in der Kohlehydratlösung.
„ 4 = Reduktion von Methylenblau durch „ruhende Bakterien" in der Kohlehydratlösung.

In diesem Zusammenhang interessiert es nicht, welche Kohlehydrate von den einzelnen Bakterienarten gesäuert werden. Hinzuweisen wäre kurz auf die Differenzen zwischen Spalte 2 und 3 der Tab. 13, die durch die Umrandung hervorgehoben sind. In Spalte 2 ist die Säuerung nach der Methode mit Chinablau-Kohlehydratbouillon-Agar bestimmt worden. In Spalte 1 sind zum weiteren Vergleich die charakteristischen Zuckersäuerungen aufgeführt, die zur Kennzeichnung der Bakterienarten dienen. Durchgehend kann man bei den Abweichungen bemerken, daß die „ruhenden Bakterien" sowohl gesäuert als auch reduziert hatten [s. auch K e n d a l l und I s h i-

kawa (26)], während auf der Platte keine Säure aufgetreten war, trotzdem jedesmal gutes Wachstum zu verzeichnen war. Man kann vermuten, daß auf der Platte die Säure durch Abbauprodukte aus dem Eiweiß wieder neutralisiert wurde.

Besonders auffallend ist das Verhalten von Bact. coli in bezug auf die Rohrzuckersäuerung. Mit „ruhenden Bakterien" trat Säuerung auf, doch auf der Platte war nichts derartiges zu erkennen. Da nun gerade hinsichtlich der Rohrzuckersäuerung die Klassifizierung zwischen Bact. coli communior und Bact. coli communis vorgenommen wird, so ergibt sich, daß hier eine neue Untersuchungsmethode zur Erkennung der Angreifbarkeit von Zuckern durch die Bakterien vorliegt[1]). Das ist außerordentlich wichtig, da sich die Bakteriologie häufig zum Zweck des Artennachweises des Vermögens lebender Keime bedient, Kohlehydrate oder Glukoside abzubauen. Diese Dinge wurden nicht weiter verfolgt, da sie über den Rahmen der vorliegenden Arbeit hinausgingen.

Versuche. durch Autolyse unter anaeroben Verhältnissen reduzierende Substanzen oder evtl. Endoenzyme (Desmolasen) von dem Bakterienkörper abzulösen, schlugen fehl. Ähnliche Versuche wurden von zahlreichen Forschern an Milchsäurebakterien vorgenommen, doch auch mit demselben negativen Ergebnis [Bertho und Zychlinski (9)]. Vorläufig muß man annehmen, daß die Reduktionsfähigkeit der Bakterien an die Zellstruktur gebunden ist.

4. Zu einer Theorie über den Mechanismus der Reduktion.

Theoretisch sind drei Möglichkeiten gegeben für den Ort der Reduktion, wenn man annimmt, daß die Reduktion durch die Bakterien verursacht wird: 1. innerhalb der Zelle, 2. auf der Zelloberfläche, 3. durch Enzyme oder dergleichen, die von der Zelle abgeschieden werden. Es wurde in den vorhergehenden Erörterungen nachgewiesen, daß die dritte Möglichkeit nicht zutrifft.

Thornton und Hastings ziehen auch diese dritte Möglichkeit in Betracht. Sie können sich nicht vorstellen, daß bei den Bakterien beim Schütteln an der Luft nach Eintritt der Reduktion während der Reduktaseprobe der oxydative Prozeß innerhalb oder auf der Oberfläche der Zelle stattfinden sollte. Dem ist entgegenzuhalten, daß erfahrungsgemäß die Oxydation, d. h. die Bläuung nach dem Schütteln doch immerhin meistens erst nach 5 Min. eintritt, während umgekehrt die Reduktion in einer bakterienreichen Probe auch schon in 5 Min. und früher eintreten kann. Schwerwiegender wäre ihr Einwand gewesen. wenn sie nachgewiesen hätten, daß die Zellwand den Farbstoff überhaupt nicht oder doch nur langsam durchläßt.

Doch von der Wielandschen Schule ist hier Aufklärung geschaffen worden. Es fiel A. Bertho (7) auf, daß die Geschwindigkeit der Essiggärung mit Methylenblau als Akzeptor außerordentlich viel geringer war als mit Sauerstoff oder Chinon. Die Umsätze O_2 : Methylenblau verhielten sich wie 12 : 1. Als Erklärung nimmt er an, daß der Farbstoff zunächst an der unwirksamen Zelloberfläche im Sinne der Freundlichschen

[1]) Die Anregung hierzu verdanke ich Herrn Dr. A. Lembke, Assistent am hiesigen Institut.

Adsorptions-Isotherme adsorbiert wird, und wie die erhaltenen Umsatzwerte zeigen, nur sehr langsam an die wirksamen Enzymorte im Zellinneren gelangt. Die Diffusionsgeschwindigkeit des Farbstoffes in die Zelle wird so geschwindigkeitsbestimmend für den Dehydrierungsvorgang.

Für unsere Reduktaseprobe aber außerordentlich wichtig ist die Feststellung. die B e r t h o und G l ü c k (8) machen konnten. daß nämlich das relative Verhältnis der Umsätze der 3 Akzeptoren: Sauerstoff, Chinon und Methylenblau bei den Milchsäurebakterien nicht diese Unterlegenheit des Methylenblaus gegenüber den anderen beiden Akzeptoren zeigt, sondern es ist im Gegenteil eine Überlegenheit zu konstatieren. Das Verhältnis der Umsätze beträgt für die beiden untersuchten Bakterien (B a c t. a c i d o p h i l u s und B a c t. D e l b r ü c k i).

Sauerstoff : Chinon : Methylenblau = 1 : 4 : 2,5.

Danach ist ein grundlegend verschiedenes Verhalten der Zellmembranen anzunehmen. Hierauf ist wohl auch die überlegene Reduktionsfähigkeit der Milchsäurebakterien in der Reduktaseprobe zurückzuführen.

Die Milchsäurebakterien sind katalasefrei. Außerdem wird ihre Atmung in keiner Weise durch Blausäure oder CO gehemmt. Diese Eigenschaften veranlaßten B e r t h o und G l ü c k (8), die Atmung dieser beiden Bakterien näher zu untersuchen, und sie fanden ein Atmungssystem in den lebenden Zellen, das genau den W i e l a n d schen Grundhypothesen der Dehydrierung entsprach. Da Katalase nicht vorhanden war, konnte der verbrauchte Sauerstoff als Hydroperoxyd wiedergefunden werden. Da nun auch die Reduktaseprobe unempfindlich gegen HCN und CO-Zusatz ist, kann man schließen, daß die Reduktion mit dem Atmungssystem der Milchsäurebakterien eng verbunden ist.

Diese Feststellung ist nun außerordentlich wichtig für die Theorie der Reduktaseprobe. In der rohen Milch haben wir es ja nicht mit einem Akzeptor zu tun, sondern es sind nebeneinander Sauerstoff und Methylenblau meistens in bestimmter Konzentration vorhanden. Da sich Leukomethylenblau spontan oxydiert, glaubte B a r t h e l, daß die Bakterien zuerst den Sauerstoff angreifen und daß das Methylenblau ganz unbeteiligt daneben stände. Aus diesem Grunde ist ein Versuch von B e r t h o und G l ü c k wichtig, in dem sie die Atmung der Milchsäurebakterien bei gleichzeitiger Gegenwart von Sauerstoff und Methylenblau maßen. Sie konnten eine Steigerung der Sauerstoff-Aufnahme um maximal 250% der Sauerstoff-Aufnahme des Normalansatzes ohne Methylenblau beobachten. Den Mechanismus der Atmung, den sich B e r t h o und G l ü c k (8) vorstellen, kann man auch als Mechanismus der Reduktion bei der Reduktaseprobe gelten lassen. Die Erscheinung kommt dadurch zustande, daß Methylenblau als Wasserstoff-Akzeptor verwendet wird und die dabei entstehende Leukoverbindung dauernd durch den Sauerstoff oxydiert wird. Es besteht das System:

1. Methylenbau $\longleftrightarrow$ Leukobase,
2. Leukobase + $O_2 \longleftrightarrow$ Methylenblau.

Vorgang 2 ist abhängig von der Sauerstoffkonzentration. Methylenblau wirkt demnach als Überträger, als Hilfskatalysator. Ob die normale Sauerstoff-Atmung neben der Methylenblau-Atmung bis zu einem gewissen Grade erhalten bleibt, läßt sich nicht entscheiden.

Jetzt können wir uns auch erklären, warum kaum eine Verzögerung der Reduktionszeit auftritt, wenn man die doppelte Menge der üblichen

Konzentration des Methylenblaus zur Milch hinzusetzt. (Die dreifache Menge erzeugt eine bedeutende Verlängerung der Reduktionszeit.) Beim Ansetzen der Probe wachsen die Bakterien nur sehr langsam. Es werden nur wenige Wasserstoffatome aktiviert und zum Methylenblau transportiert. Das Leuko-Methylenblau gibt dann sehr schnell seinen Wasserstoff an den Sauerstoff ab und wird auf diese Weise regeneriert. Ohne den Farbstoff würde die Reduktion langsamer vor sich gehen. Wir weisen damit dem Methylenblau die Funktion eines Hilfskatalysators zu, der die Aufgabe hat, die Reaktion mit dem Sauerstoff zu intensivieren und damit die Stoffwechselvorgänge zu beschleunigen. Mit Überwindung des Inkubationsstadiums werden die in der Zeiteinheit durch Vermittlung des Methylenblaus beförderten Wasserstoffatome immer zahlreicher bis schließlich zum Transport je nach der Menge die meisten Methylenblau-Moleküle in Anspruch genommen sind. Plötzlich hält mit dem Verbrauch des größten Teils der Sauerstoffmoleküle (alle werden niemals verbraucht, wie es die Redoxpotentialmessungen ergeben, Thornton and Hastings) die Reoxydation des Leuko-Methylenblaus auf und die Wasserstoffatome bleiben am Farbstoff, so daß die betroffenen Moleküle reduziert bleiben. Die von der Dehydrase freigesetzten Wasserstoffatome genügen noch, um die doppelte Menge Methylenblau zu reduzieren, reichen aber nicht aus zur sofortigen Reduktion der dreifachen Menge.

Zusammenfassung.

Eine Standardmethode zur Feststellung der Reduktionskraft von in Milch wachsenden Mikroorganismen wurde ausgearbeitet.

Milchsäurestreptokokken, Bact. coli, Mikrokokken und Sporenbildner reduzieren am stärksten. Zur Reduktion sind gegen Rohmilch gemessen eine erheblich höhere Anzahl von Keimen notwendig, um in derselben Zeit die Entfärbung zu bewirken wie in der Rohmilch Alkalibildner reduzieren sehr langsam. Die Milchsäurestreptokokken und Bact. coli teilen sich bis zum Eintritt der Reduktion sehr oft, dagegen nicht so viel Bact. alcaligenes und der untersuchte Micrococcus. Bei Mischungen von Reinkulturen mit Str. lactis bewirkt der Streptococcus im wesentlichen die Reduktion auf Grund seiner überlegenen Wachstumsgeschwindigkeit.

Eine Hemmung der Reduktionsfähigkeit tritt im Alter durch Einwirkung von Stoffwechselprodukten z. B. von Milchsäure ein. Die Milchsäurestreptokokken reduzieren nicht mehr nach 6 Tagen, der empfindliche Str. bovis nicht mehr nach 24 Std. Die Reduktionskraft von Bact. coli und Bact. fluorescens nimmt mit dem Alter ebenfalls ab. Wird die Wirkung der Milchsäure durch Zusatz von Kreide aufgehoben, so bleibt die Reduktionskraft erhalten.

Die baktericiden Kräfte frischer Kuhmilch hemmen die Reduktionskraft der Milchsäurestreptokokken; bei den Mikrokokken ist das Bild uneinheitlich. Die Baktericidie hat keinen Einfluß auf die Reduktionszeit in der Rohmilch.

Durch Keimzählung am Anfang und nach Eintritt der Entfärbung in der Reduktaseprobe wird die Entwicklung der einzelnen Bakterienarten erkannt. Bact. coli und den Mikrokokken kann ein Einfluß auf die Reduktaseprobe nicht zugesprochen werden. Das steht im Widerspruch zu der herrschenden Ansicht. Hauptsächlich die Milchsäurestreptokokken be-

wirken durch ihr überlegenes Wachstum die Reduktion. Die Gegenwart von Nichtsäurebildnern in größerer Anzahl als die Milchsäurestreptokokken erklärt die Ausnahmen von der Reduktaseprobe.

Anschließend wird die Bedeutung der Reduktaseprobe für die Erkennung von Qualitätsmilch und zur Erziehung der Lieferanten behandelt.

Zum Schluß wird der Mechanismus der Reduktion besprochen. Succinate, Zitrate und Cystein der Milch können nicht als Ursachen der Reduktion angesehen werden. Die Wirksamkeit des Cysteins wird dargelegt. Werden die Bakterien durch Antisepticis abgetötet und der Sauerstoff entfernt, so tritt in der Rohmilch keine Reduktion ein. In der Rohmilch reduzieren also allein die Bakterien. Es wird nachgewiesen, daß Bouillonagar Methylenblau reduzieren kann. Mit „ruhenden Bakterien" nach Quastel tritt bei Säuerung von Kohlehydraten auch stets gleichzeitig eine Reduktion von Methylenblau ein. Diese Methode der „ruhenden Bakterien" wird vorgeschlagen zur Erkennung der Fähigkeit der Bakterien zur Zuckersäuerung.

Es wird eine Theorie über den Mechanismus der Reduktion des Methylenblaus in der Milch entwickelt. Dem zugesetzten Methylenblau wird die Rolle eines Hilfskatalysators zugewiesen.

Literaturverzeichnis.

1. Barthel, Chr., Ztschr. f. Unters. Nahrungs- u. Genußmitteln. Bd. 15. 1908. S. 385. — 2. Ders., Ztschr. f. Unters. Nahrungs- u. Genußmitteln. Bd. 34. 1917. S. 137. — 3. Ders., Methoden zur Untersuchung von Milch- und Molkereiprodukten. Berlin (Verl. Parey) 1920. — 4. Ders., Arkiv f. Kemi, Mineralogie v. Geologie. Bd. 9. 1925. S. 19. — 5. Bahrs, J., Beitrag zur Kenntnis des Entstehens von Milchfehlern. Dissertation Kiel 1933. — 6. Baginski, Dtsch. med. Wochenschr. 1888. S. 391. — 7. Bertho, A., Lieb. Annal. d. Chemie. Bd. 474. 1929. S. 1. — 8. Bertho, A. und Gluck, Lieb. Annal. d. Chemie. Bd. 494. 1932. S. 159. — 9. Bertho, A. und Zychlinski, Lieb. Annal. d. Chemie. Bd. 512. 1934. S. 81. — 10. Brand, E., Münch. med. Wochenschr. Bd. 22. 1907. S. 820. — 11. Burri, B. und Kürsteiner, Milchw. Zentralbl. Bd. 41. 1912. S. 40. — 12. Carapelle, Ztsch. f. Bak., Abt. I. Bd. 47. 1908. S. 545. — 13. Clark, Public. Health Reports. Vol. 40. 1925. p. 1131—1201. (Reprint No. 1017.) — 14. Christiansen, Molk.-Ztg., Hildesheim. Jahrg. 40. 1926. S. 1819. — 15. Claußen, M., Über den Einfluß des Natriumchlorids auf einige in der Milchwirtschaft wichtige Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung der Milchsäurebakterien. Dissertation Kiel 1935. — 16. Chesney, A. M., Journ. Exper. Med. Vol. 24. 1916. p. 387. — 17. Damm, H., Milchwirtsch. Ztg. 1935. S. 151. — 18. Dons, R., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 40. 1914. S. 132. — 19. Drewes, Über die Bakterieidie der Milch. Dissertation Kiel 1926. — 20. Ellinger und Koschara, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 66. 1933. S. 355. — 21. Fred, E. B., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. 1912. S. 391. — 22. Hanke, Milchw. Forsch. Bd. 2. 1925. S. 343. — 23. Hastings, Journ. of Dairy Science. Vol. 2. 1919. p. 295. — 24. Henneberg, Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1932. Heft 92, 94, 95, 97, 98, 100. — 25. Huttig, Milchwirtsch. Ztg. Bd. 31a. S. 1249. — 26. Kendall and Ischikawa, Journ. of infect. dis. Vol. 44. 1929. p. 282. — 27. Muller, Fr., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 26. 1899. S. 51 u. 801. — 28. Neißer, M. und Wechsberg, F., Münch. med. Wochenschr. Bd. 37. 1900. S. 1261. — 29. Orla-Jensen, Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 18. 1907. S. 211. — 30. Ders., The lactic acid bacteria. Det Kongelige Danske Videnskabernes Selbot. Skriften. Kopenhagen 1919. — 31. Quastel und Whetham, Biochem. Journ. Vol. 18. 1924. p. 519. — 32. Rahn, O., Milchw. Zentralbl. Bd. 49. Heft 21, 22, 23. 1920. — 33. Roszaheghyi, Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 2. 1887. S. 418. — 34. Schwarz, G., Milchw. Forsch. Bd. 7. 1929. S. 540. — 35. Stölting, Über die Streptokokken des normal reifenden Tilsiter Käses. Beitrag zur Kenntnis beweglicher Streptokokken. Dissertation Kiel 1935. — 36. Smidt, H., Archiv f. Hygiene. Bd. 58. 1906. S. 313. — 37. Seeligmann, J., Ztschr. f. Hygiene. Bd. 52. 1906. S. 161. — 38. Sommerfeld, T., Hyg. Zentralbl. Bd. 4. 1908. S. 1. — 39. Svanberg, Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. 108.

1919. S. 120. — 40. Thornton, H. R., and Hastings, E. G., Journ. of Bacter. Vol. 8. 1929. p. 293. — 41. Van Dam, Opstellen ower moderne zuevelchemie. 2 nd. ed. Gravenhagen (zitiert nach O. Rahn, Physiol. of Bacteria. Philadelphia. p. 144). — 42. Wagner-Jauregg und Ruska, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 66. 1933. S. 317 u. 1298. — 43. Whitehead, H. R., Biochem. Journ. Vol. 24. 1931. p. 930. — 44. Wolff und Weigmann, Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 44. 1916. S. 164. — 45. Wolff, A., Arb. a. d. Path. Inst. Tubingen. Bd. 3. 1902. S. 294.

Weiterer Beitrag zur Kenntnis der neuen autotrophen und thermophilen Schwefelbakteriengesellschaft.

[Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Deutschen Universität Prag.]

Von V. Czurda.

Mit 4 Abbildungen im Text.

Bei der Fortsetzung der Studien über die Bakterienflora des Thermalwassers und des Heilschlammes von Pistyan (Czurda 1936) wurden Beobachtungen gemacht, die imstande sind, unsere Vorstellung über die Verbreitung und Wirkung der Thiosulfat vergärenden Bakterien[1]) zu vervollständigen. Darüber sei im folgenden berichtet.

Der Versuch, mit Hilfe des Nähragars nach Vorschrift von Emoto (1933, S. 411, Czurda 1936, S. 410) und des Kochschen Plattengußverfahrens die Verteilung der bisher dort aufgefundenen, Thiosulfat verarbeitenden Bakterien im natürlichen Lebensraum im Laufe des Jahres systematisch kennenzulernen, ergab die immer wieder bemerkte Schwierigkeit, daß ein Nachweis von Sulfomonas[1]) (Thiobacterium) Nr. 1 und Nr. 2 nur nach einer vorhergehenden Anreicherung in gleichartig zusammengesetzter Lösung sicher gelingt. In wenigen Fällen (bloß 5 unter 93) ist schon nach Einsaat der natürlichen Proben, rund 20 mg Schlamm in 10 ccm Nähragar, eine Kolonienentwicklung von Sulfomonas Nr. 1 erfolgt. Auf Grund dieser sowie der allgemein bekannten Erfahrungen über die Unzuverlässigkeit der Plattengußmethode für Keimzählungen wurden die Keimdichten weiterhin mit einem verkürzten Unterteilungsverfahren mit Nährlösungen ermittelt.

Schon Emoto (S. 411) hat bei der Verwendung seines für Sulfomonas thermitanus bestimmten festen Nährbodens die Beobachtung gemacht, daß nur die oberflächlich aufgetragenen Keime von Anreicherungskulturen sicher angehen, aber nicht die eingesäten. Wenn es mir auch möglich war, die beiden obengenannten Organismen durch Keimeinsaaten aus

[1]) Bakterien mit dieser Fähigkeit wurden seinerzeit in eine besondere Gattung, Thiobacillus Beijerinck, eingeordnet. In der vorigen Mitteilung habe ich darauf hingewiesen, daß diese Organismen in Anlehnung an die Nomenklatur von Lehmann und Neumann besser als Thiobacterium zu bezeichnen wären. Der kürzlich erschienene Vorschlag von Kluyver und van Niel (1936) zur Vereinheitlichung der Benennung der Bakteriengattungen ist so vorteilhaft, daß ich mich dem Vorschlage anschließe. Ich werde daher im folgenden zur Bezeichnung der Gattung den von Orla-Jensen eingeführten Namen Sulfomonas gebrauchen, dessen Priorität schon Waksman (1922) betont hat.

Anreicherungskulturen wiederholt zu isolieren, so konnte ich bei der fortgesetzten Beobachtung der Stämme selbst die Tatsache bestätigen, daß die Keime in Ausstrichen weit sicherer angehen, als in der Einsaat.

Eine von den Ursachen für dieses Verhalten ist der Umstand, daß bei der Herstellung der Kulturen ein vorher aufgekochter, daher gasarmer Nährboden verwendet wird. Durch die hohe Bebrütungstemperatur (46—50° C) dürfte kein hinreichender Nachschub von Sauerstoff und Kohlensäure stattfinden, um die Bedürfnisse der aeroben, kohlenstoffautotrophen Organismen in der Tiefe des Substrates zu befriedigen. Eine Erhöhung der Kohlensäurekonzentration steigert etwas die Sicherheit des Anwachsens der Keime. Die überdies versuchte Abänderung der Zusammensetzung der flüssigen und festen Nährböden hat aber ähnlich wie bei Emoto keinen solchen Erfolg gebracht, daß die Schwierigkeiten des Nachweises solcher Keime und der Züchtung isolierter Stämme im gewünschten Ausmaß beseitigt wären.

Die fortgesetzte Beobachtung einer Reihe gleichartiger Stämme von Sulfomonas Nr. 1 zeigte folgendes Verhalten[1]).

Die Säurebildung in den Kulturen, welche in den Röhrchen mit schräg erstarrtem Nähragar angelegt sind, wirkt sich in einer völligen Lösung des Bodenkörpers von sekundärem Kalziumphosphat in 7—9 Tagen aus. Sie beginnt oben unterhalb des gelblich-weißen Ausstriches und schreitet bei andauernder Vermehrung allmählich auf den Grund des Röhrchens fort, wo die Agarschicht den Röhrchenquerschnitt ausfüllt. Nach der völligen Klärung des Substrates beginnt oben die Abscheidung von Gipskristallen. Solche durch Gummistöpsel vor dem Eintrocknen geschützten Kulturen enthalten dann 5—8 Wochen lang noch entwicklungsfähiges Keimmaterial. Offene Kulturen wären bei der Temperatur von 48° C bereits eingetrocknet.

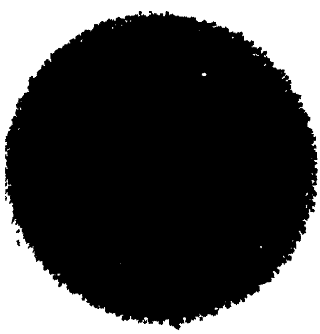


Abb. 1. Oberflächenkolonie von Sulfomonas Nr. 1 auf Emotoschem Agar am 8. Kulturtag (Petrischale). In der Kolonie die schwarzen Schwefeltröpfchen. Bodenkörper ($CaHPO_4$) völlig gelöst. Rechts unscharf zu sehen eine ebenso alte Tiefenkolonie. Rund 180 fache Vergrößerung.

In den Oberflächenkolonien sind anfangs viele Schwefeltröpfchen (s. Abb. 1) eingelagert, die später wieder gelöst werden und den Farbwechsel der Kolonie von weiß nach bräunlich bedingen. Außerhalb der Kolonie erfolgt hier niemals eine Schwefelabscheidung. Das Verhalten gleicht jenem von Sulfomonas thiooxydans, Waksman (1922), Starkey (1925).

Kulturen mit 10 ccm Nährlösung nach Emoto zeigten in den anfänglichen Passagen, wie früher geschildert worden ist, keine äußerlich erkennbaren Veränderungen der Lösung außer einer Abnahme des Bodenkörpers und einer leichten Trübung und einer Abscheidung von Gips. Schwefel ist niemals ausgefällt worden. In den späteren Kulturen wurde aber Schwefel aus dem restlichen Thiosulfat durch Säuerung der Lösung gefällt, wie das jetzt auch noch der Fall ist. Die aus kugeligen Tröpfchen bestehende milchige Trübung ist am Grunde am dichtesten. Die Schwefeltröpfchen setzen sich im weiteren

[1]) Die in der vorhergehenden Mitteilung noch nicht genau ermittelten Zelldimensionen für Sulfomonas Nr. 1 und Nr. 2 sind nachstehende: Zellbreite 0,3 μ, Länge 0,7—1,0 μ.

zunächst am Grund und an den Seitenwänden ab, so daß die Lösung wiederum nahezu klar wird. Später werden sie unter Andauer der Bodenkörperlösung wieder restlos gelöst. Die von den Organismen herrührende feine Trübung verstärkt sich mit zunehmendem Alter der Kultur. In alten Kulturen ist außer der Schwefelsäure kein anderes Stoffwechselprodukt (Schwefel oder Tetrathionat) zu finden. Das deckt sich mit den Beobachtungen an Sulfomonas thiooxydans und Sulfomonas thermitanus.

Die Intensität der Säurebildung von Sulfomonas Nr. 1 bei 48° C entspricht ungefähr der von Sulfomonas thiooxydans[1] [Waksman (1922 a und b) und zuletzt Starkey (1925)] bei der entsprechenden Optimaltemperatur von 22° C. Der Vergleich erfolgte auf Nähragar und in Nährlösung nach Emoto.

Ein genauer Vergleich der beiden Organismen bei ein und derselben Temperatur ist nicht durchführbar, weil Sulfomonas thiooxydans oberhalb von 35° C keine Vermehrung und keine Säurebildung erkennen läßt und Sulfomonas Nr. 1 bei Temperaturen unter 30° C meist nicht mehr oder nur sehr langsam angeht und nur langsam Säure bildet. Die raschere Säurebildung von Sulfomonas Nr. 1 scheint nur auf die Wirkung höherer Temperatur zurückzugehen. Eine ähnliche Schwierigkeit eines Vergleiches dürfte auch bei Sulfomonas thermitanus Emoto bestehen, der nach Feststellung des Autors (S. 417) schon bei 37° C und darüber keine Vermehrung und keine Säurebildung zeigt. Dieser Organismus stand mir jedoch für den Vergleich nicht zur Verfügung.

Die Säuerung bleibt in flachen Schichten in dieser Nährlösung infolge der beschränkten Menge von Thiosulfat um p_H 2,8 stehen. In Lösungen mit elementarem Schwefel als Energiequelle an Stelle von Thiosulfat und mit großer Oberfläche geht die Säuerung weiter bis zu dem bei Sulfomonas thiooxydans und thermitanus beobachteten Bereich um p_H 1,5. Der tiefste bisher beobachtete Wert bei noch teilweiser Lebensfähigkeit des Zellmateriales liegt ungefähr bei p_H 0,8 (s. a. Emoto 1933, S. 421 bei p_H 0,65). Vom Erreichen des Wertes p_H 2,5 an finden sich im Zellgemisch häufig Involutionsformen.

Wenn die Stämme von Sulfomonas Nr. 1 trotz der erwähnten Unsicherheit bis heute erhalten werden konnten, so ist dies einer häufigen Überimpfung, die infolge einer hohen Bebrütungstemperatur und des damit zusammenhängenden raschen Austrocknens ohnehin etwa alle 8 Tage notwendig ist, unter jedesmaliger Anlage mehrerer gleichartigen Überimpfungen und der dadurch erzielten Umgehung eines Ausfalles zuzuschreiben.

Die Stämme von Sulfomonas Nr. 2[2]), welche sich durch Ausbleiben einer Phosphatauflösung und durch Abscheidung von elementarem Schwefel vom Sulfomonas Nr. 1 unterscheiden, haben der Fortzüchtung auf Emotoschem Nähragar noch größere Schwierigkeiten bereitet. Die meisten von ihnen gingen in der 6. Passage nicht mehr an.

Dieser Organismus bildet auf dem genannten Agar kreisrunde Oberflächenkolonien, welche im Inneren und in ihrer Umgebung Schwefeltröpfchen ohne Säurebildung abscheiden (Abb. 2). Diese werden auch in alten Kulturen nicht oder nicht merkbar gelöst. Eine Schwefelabscheidung der Tiefen-

---

[1]) Für die freundliche Überlassung des Originalstammes von Sulfomonas thiooxydans und thioparus danke ich den Herren S. Waksman und Starkey, New Yersey, U. S. A.

[2]) Siehe Anmerkung auf S. 139.

kolonien im umgebenden Agar fehlt. Bloß diejenigen, welche nahe der Oberflächen liegen, zeigen eine solche an der Agaroberfläche. Daraus geht hervor, daß zur Abscheidung des Schwefels guter Luftzutritt notwendig ist. Die aus Thiosulfat entstehenden Stoffwechselprodukte sind noch nicht vollständig ermittelt. Eine starke und andauernde Vermehrung ermöglicht der im folgenden genannte Nährboden.

Mit Rücksicht auf den hohen Gehalt des Thermalwassers an Kalziumkarbonat wurde unter anderem zur Ermöglichung von Keimdichtebestimmungen auch eine Lösung nachstehender Zusammensetzung als flüssiger bzw. fester Nährboden angewendet.

$CaCO_3$	0,5% als Bodenkorper	$MgCl_2$	0,01%
$Na_2S_2O_3$ . . .	0,5%	NH_4Cl . . .	0,01%
KH_2PO_4 . . .	0,001%	$FeCl_3$	0,0001%

Der Zusammensetzung nach gleicht diese Lösung der von Beijerinck, Jacobsen, Starkey (1934 b S. 372, hier auch die ältere Literatur) verwendeten. Ihre Reak-

Schottglas nach Ausgleich mit der Atmosphäre zwischen pH 7.5—8,0.

Diese Lösung hat sich zwar als fester Nährboden für die Kultur von Sulfomonas Nr. 1 und direkte Keimdichtebestimmung an Sulfomonas Nr. 1 und Nr. 2 auch nicht bewährt. Aber seine Verwendung hat die dauernde Fortzüchtung des Sulfomonas Nr. 2 gesichert und hat zur Auffindung eines weiteren wichtigen, thermophilen Gliedes der Biocoenose des Thermalwasserbereiches geführt.

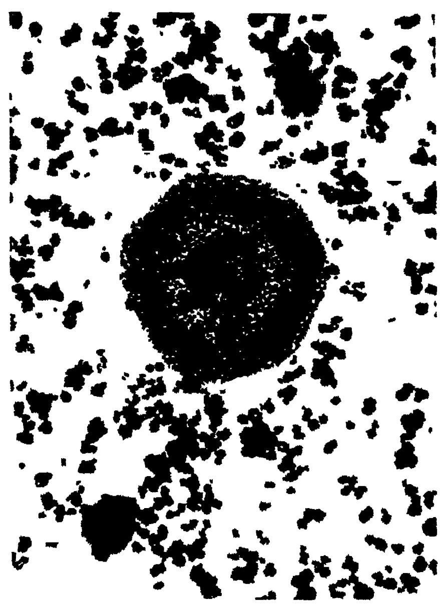


Abb. 2. Oberflachenkolonie von Sulfomonas Nr. 2 auf alkalischem Thiosulfatagar am 8. Kulturtag (Petrischale). In der Agaroberflache um die Kolonie herum abgeschiedener Schwefel. Bodenkorper ($CaCO_3$) nicht gelöst. Rund 180fache Vergr.

Plattengüsse mit dem vom natürlichen Standort entnommenen Thermalwasser und Schlamm zeigten, bei 50° C bebrütet, nach Ablauf von 48 Std. 3—5 mm große, weiße, kolonienartige Bildungen mit diffusem Rand, welche sich nach weiteren 2—3 Tagen bis zu der in Abb. 3 dargestellten Größe und Form entwickelt haben.

Die mikroskopische Untersuchung solcher „Kolonien" ergibt, daß es ausgedehnte Schwefelfällungen im Agar sind, in deren Mitte zwar keine Kolonienbildungen zu erkennen sind, wo aber dennoch Organismen gefunden werden können. Das in der Agarschicht suspendierte Kalziumkarbonat wird nirgends, auch nicht in der Schwefelfällungszone, sichtbar aufgelöst. Ein Säurebildner scheint also nicht vorzuliegen (Abb. 3 und 4). Die Schwefelhöfe erreichen einen Durchmesser bis zu 20 mm. Wurden solche Platten, gegen Austrocknung geschützt, 3—4 Wochen stehen gelassen, so waren

auch nach dieser Zeit keine Veränderungen an dem Schwefelniederschlag zu sehen. Eine Lösung des Schwefels findet hier nach dem Verschwinden des Thiosulfates also nicht statt, wie es bei Sulfomonas Nr. 1 vorkommt. Abimpfungen von den zentralen Teilen solcher Schwefelfällungen auf die Oberfläche des gleichartigen Substrates zeigten in den folgenden Tagen die gleiche Erscheinung. Außer Kolonien dieser Art sind im direkten Plattenguß keine anderen, auch nicht solche von Sulfomonas Nr. 1 und Nr. 2, angetroffen worden.

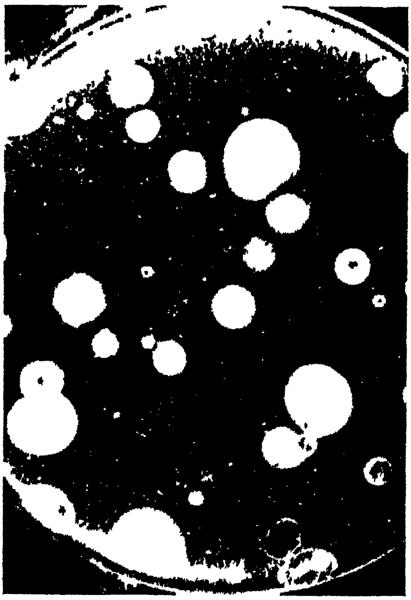


Abb. 3.



Abb. 4.

Abb. 3. II. Verdünnungsstufe aus einem Kochschen Plattengußverfahren mit alkalischem Thiosulfatagar bei 48° C am 5. Kulturtag. Zur Aussaat in der I. Verdünnungsstufe gelangten rund 20 mg natürlichen Heilschlammes aus dem „alten Bad". Um die nicht sichtbaren Kolonien von Sulfomonas Nr. 3 wird im weiten Umkreis Schwefel abgeschieden. Keine Losung des Bodenkörpers ($CaCO_3$). Leica-Nahaufnahme 1 : 3, $^2/_3$ naturl. Größe.

Abb. 4. Die Randzone eines der großen Schwefelniederschlagshöfe in der in Abb. 3 dargestellten Platte. Rund 180fache Vergr.

Durch mehrmaligen Plattenguß mit dem Zellmaterial solcher Kolonien sind mehrere Stämme, vorläufig als Sulfomonas Nr. 3 bezeichnet, isoliert und nach Feststellung ihrer Einheitlichkeit näher untersucht worden.

Es sind bewegliche Stäbchen von ungefähr $0{,}5 \times 2{,}0\ \mu$. Sie sind deutlich größer als Sulfomonas Nr. 1 und Nr. 2, aber ebenso wie diese gramnegativ. Sporenbildung wurde nicht gesehen.

In die Lösung obiger Zusammensetzung eingeimpft, rufen sie eine nach 24 Std. am Meniskus beginnende milchige Trübung hervor, welche in weiteren 24 Std. bis auf den Grund der Lösung fortschreitet, dabei ständig an der Oberfläche besonders dicht bleibt. In den nächsten 2—3 Tagen klärt sich von unten her die Lösung unter Bildung einer zunächst weißen, später schließlich schwefelgelben brüchigen Haut, die sich im weiteren nicht mehr ver-

ändert. Mikroskopisch liegen zur Zeit der milchigen Trübung flüssige Schwefeltröpfchen vor. die sich an der Oberfläche zu größeren vereinigen. Dazwischen sind die Bakterien verteilt. Während des Zusammenfließens der Tröpfchen an der Flussigkeitsoberfläche setzt bereits eine Kristallisation ein, die makroskopisch an der gelben Färbung der Haut kenntlich ist. Auch dieser Schwefel wird nicht wieder gelöst. Nicht ausschließen möchte ich aber eine geringe Lösung an den kleinsten Schwefeltröpfchen in der Nährlösung, weil solche mit korrosionsähnlichen Erscheinungen und eingebetteten Bakterienzellen gefunden werden. Diese Situationen könnten allerdings auch durch Einhüllung von Bakterien bei der Abscheidung des Schwefels entstanden sein. Nach Bildung der schwefelgelben Haut an der Oberfläche der Kulturflüssigkeit tritt eine völlige Klärung der Lösung ein. Erst später (nach 10—15 Tagen) beginnt sie sich wiederum durch Zunahme der Bakterienzahl leicht zu trüben. Wie in alten Agarkulturen erfolgt auch in gealterten Lösungskulturen die Bildung von Anhydritkristallen, die am Meniskus heranwachsen und besonders bei Erschütterungen nacheinander auf den Grund absinken. Auch zu dieser Zeit bemerkt man keine sichtbare Abnahme des Bodenkörpers ($CaCO_3$).

Durch Versuchsanordnungen, welche eine rasche Sauerstoff- oder Kohlensäure-Entfernung ermöglichen (Burriverschluß), wird die Schwefelfällung und die Vermehrung des Organismus verhindert. Es handelt sich demnach um einen aeroben, obligat Kohlensäure assimilierenden Sulfomonas. Peptone (Witte, Vaillant), Bouillon, Zucker (Glukose und Saccharose), Natriumlaktat, Asparagin, Glykokoll vermochten das Thiosulfat als Energiequelle nicht zu ersetzen. Im Emotoschen Nähragar unterbleibt die Vermehrung der frisch vom Standort oder aus Anreicherungskulturen geholten Keime. Auch ein Thiosulfatverbrauch und eine Schwefelfällung sind nicht nachweisbar. Geeignet ist jedoch die von Starkey 1934 b, S. 372 angegebene Lösung Nr. 4.

Dem geschilderten Verhalten nach steht dieser Organismus dem Sulfomonas thioparus (Nathansohn) Starkey (1935a, S. 330ff., 1935b, S. 209 ff.) nahe. Er unterscheidet sich von ihm jedoch durch die Gestalt, Beweglichkeit und durch das hochliegende Temperaturoptimum. Wie ein Vergleich mit dem Starkeyschen Originalstamm zeigt, liegt das Temperaturoptimum für Sulfomonas Nr. 3 zwischen 48—56° C, für Sulfomonas thioparus zwischen 25—30° C. Auch sonst liegen noch kleinere Unterschiede im Verhalten vor. Die Stoffwechselprodukte meiner Stämme sind noch nicht hinreichend untersucht worden.

Die Verbreitung dieses Organismus ist mittels des Plattengußverfahrens am Standort untersucht worden. Er wurde in größter Zahl im Schlamm der Badehäuser, der unter dem Thermalwassereinfluß steht, angetroffen. Auch in Schlammproben, welche längere Zeit dem Thermalwassereinfluß entzogen waren (Trockenschlamm und feuchter Versandschlamm), wurde er auf diese Weise nachgewiesen. Zu fehlen scheint er jedoch vollkommen in den Ablagerungen des Thermalwasserabflusses, auch fehlt er wie Sulfomonas Nr. 1 und Nr. 2 in Ackerböden und Süßwasserschlamm.

Durch Plattengüsse mit den beiden Nähragarsorten wurde auch das in den beiden Lösungen gleichzeitig angereicherte Organismenmaterial zerlegt. Die aus diesen Platten abgeschiedenen Stämme wurden dann näher auf ihr biochemisches Verhalten geprüft, in der Erwartung, auf diesem Weg

noch weitere Organismen dieser Gruppe aufzufinden. Der Bewuchs der Platten zeigte, daß die selektive Wirkung der beiden Nähragarproben gegenüber den agarlosen Nährlösungen nicht so groß ist, wie nach den anfänglichen Beobachtungen vermutet werden konnte. Auf Emotoschem Agar erscheinen die Kolonien von Sulfomonas Nr. 1 und Nr. 2, auf dem alkalischen Thiosulfatagar die von Sulfomonas Nr. 2 und Nr. 3 gleichzeitig. Sie sind voneinander und von den Mischkolonien schwer zu unterscheiden. Die im Vergleich zu den Reinkulturen ziemlich geringe Selektionswirkung der Anreicherungskulturen ist offenbar dem Umstande zuzuschreiben, daß die eingerichteten ökologischen Verhältnisse in den beiden Lösungen durch das von Anfang an stattfindende Zusammenwirken der drei Organismen bald so geändert werden, daß die auswählende Wirkung aufgehoben ist.

Neben Kolonien der drei Sulfomonasarten und ihren Mischkolonien, deren Zahl durch Beteiligung heterotropher thermophiler Bakterien noch erhöht sein kann, sind aus den Platten dieser Anreicherungskulturen mehrere, nicht durch besondere Merkmale der Kolonien auffallende Stämme abgeschieden worden, welche in Lösung gezüchtet einen gleichbleibend abweichenden Wuchs zeigen. Weder mikroskopisch noch durch weitere Isolierungsversuche konnten sie zerlegt werden. Nach dem Gesamtverhalten dieser Stämme zu schließen, scheinen es mehrere physiologische Rassen von Sulfomonas Nr. 2 zu sein. Am auffallendsten unter ihnen ist die Gruppe h 24 und 25. Durch eine reichliche Abscheidung von Gallerte in der Emotoschen Lösung bilden sich an der Oberfläche der Flüssigkeit feste Häutchen mit schwach milchiger Färbung. In den Häutchen liegen die Zellen in einer Lage in großen, regelmäßigen Abständen eingebettet. Dazwischen finden sich verstreut Schwefeltröpfchen. Die Häutchen können vom Meniskus absinken und die Bildung neuer Oberflächenhäutchen erlauben. Die Lösung selbst bleibt dabei völlig klar. Eine Auflösung des Bodenkörpers und eine damit einhergehende Bildung von Gipskristallen ist selbst in alten Kulturen nicht zu bemerken.

Trotz Auffindung der genannten Organismen scheint doch das in der früheren Mitteilung erwähnte kleinzellige Bakterienmaterial des Thermalwasserabflusses nicht restlos analysiert zu sein, wie das in der früheren Mitteilung angenommen worden ist. Im Gegenteil, auf Grund der nun vorliegenden Erfahrungen über die Keimdichten am Standort und in den angegangenen Aussaaten und über die Wirkung der beiden Lösungen dürfte mit den festgestellten Aerobiern nur ein kleiner Teil davon erfaßt sein. Der bisher nicht ermittelte größere Anteil scheint ähnlich wie Thiospirillum pistiense besondere Lebensbedingungen zu verlangen.

Gewisse Beobachtungen von stofflichen Veränderungen des Thermalwassers legen die Mitwirkung von anderen, vielleicht von anaeroben eigenartig wirksamen Schwefelbakterien nahe, deren Auffindung mit den bisher angewendeten Verfahren nicht erwartet werden konnte. Die mikroskopisch nachweisbare Anwesenheit von bisher nicht züchtbaren Organismen am Standort und in anaeroben Rohkulturen und die Entstehung von Schwefelwasserstoff in solchen sprechen dafür, daß auch Anaerobier in den Schwefelumsatz des Thermalwassers und des Heilschlammes eingreifen. Auch diese zu erfassen, ist die Aufgabe der weiteren bereits begonnenen Untersuchungen.

Zusammenfassung.

Neben der Schilderung des weiteren Verhaltens der früher isolierten und als Thiobacterium, jetzt als Sulfomonas Nr. 1 und Nr. 2 bezeichneten Organismen wird die Beschreibung des Aussehens und des kulturellen Verhaltens einer dritten und vierten aufgefundenen und isolierten Komponente der kleinzelligen Bakteriengesellschaft des Thermalwasserbereiches von Pistyan gegeben. Der dritte, vorderhand als Sulfomonas Nr. 3 benannte Organismus hat einen Stoffwechsel, der jenem von Sulfomonas thioparus (Nathansohn) Starkey ähnlich ist. Er ist kohlenstoff-autotroph und aerob. Als Energiequelle dient hier Thiosulfat, das in Schwefel und Sulfat umgesetzt wird. Er unterscheidet sich von Sulfomonas thioparus durch die stets vorhandene Beweglichkeit, durch andere Gestalt und durch das zwischen 48 und 56° C liegende Temperaturoptimum.

Literatur.

Bunker, H. J., A review of the physiology and biochemistry of the sulphur bacteria. (Chemistry Research. No. 3. London 1936.) — Czurda, V., Über eine neue autotrophe und thermophile Schwefelbakteriengesellschaft. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 92. 1935.) — Emoto, Y., Studien über die Physiologie der schwefeloxydierenden Bakterien. (Bot. Mag. Tokyo. Bd. 47. 1933.) — Kluyver, A. J. und van Niel, C. B., Prospects for a natural system of classification of bacteria. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 94. 1936.) — Starkey, R. L., Concerning the physiology of Thiobacillus thiooxidans, an autotrophic bacterium oxidizing sulfur under acid conditions. (Journ. of Bact. Vol. 10. 1925.) — Starkey, The production of polythionates from thiosulfate by microorganisms. (Journ. of Bact. Vol. 10. 1934 a.) — Starkey, R. L., Cultivation of organisms concerned in the oxidation of Thiosulfate. (Journ. of Bact. Vol. 28. 1934 b.) — Starkey, R. L., Products of the oxidation of thiosulfate by bacteria in mineral media. (Journ. of Gen. Phys. Vol. 18. 1935 a.) — Starkey, R. L., Isolation of some bacteria which oxidize thiosulfate. (Soil Science. Vol. 39. 1935 b.) — Waksman, S., Microorganism concerned in the oxidation of sulfur in the soil. IV. A solid medium for the isolation and cultivation of Thiobacillus thiooxidans. (Journ. of Bact. Vol. 7. 1922 a.) V. Bacteria oxidizing sulfur under acid and alkaline conditions. (Journ. of Bot. Vol. 7. 1922 b.)

Remarks on Bacterial Taxonomy.

[National Institute for Medical Research, London.]

By **P. Bruce White.**

As our science advances the principles and practice of bacterial classification must at intervals come up for review. Whether the present time is opportune for such review is doubtful, but discussion is challenged by the recent paper of Kluyver and v. Niel (1936) on the "Prospects for a natural system of classification of bacteria".

These authors point to the ideal of a true phylogenetic classification, weigh the arguments of the extreme "morphological" and "physiological" schools, survey the existing taxonomic systems and decide that a rational and stable basis for bacterial taxonomy is to be found by a judicious blending of morphological and metabolic criteria. Finally they present their own arrangement of Bacteria, as inspired by belief in "both morpholo-

gical and katabolic evolution in the bacterial kingdom" and directed by common sense. The issue is ably argued and the generic system presented is comprehensive: this contribution to microbial taxonomy must appreciably reinforce the wider movement towards an agreed solution along these general lines — but that such a solution should acquire the stability of wide or official acceptance, or should be regarded as more than a makeshift, would, in my opinion, be contrary to the best interests of bacteriology.

That the aim of true taxonomy is to assemble those forms which are closely related and to separate them, in proportion to their phylogenetic divergence, from those to which they are less closely related, will be generally agreed. Provided this end be achieved the nature of the differential criteria employed — morphological, physiological, or other — is of small import.

Faced with the same essential problem, botanists and zoologists have conclusively argued the insecurity and general inadmissability of functional criteria and. though in dealing with the primary schism between their two kingdoms they have as yet found no alternative, they have clearly declared such criteria to be the last resort of taxonomic despair.

It is towards this "last resort" of the older biologies that certain bacteriologists are straining — not for the decision of a single issue but for general and manifold purposes. Now it cannot be suggested that the arguments against reliance on functional criteria which hold in the case of the metabionta are, in that of bacteria, invalid. It may be suggested, on the contrary, that they have exceptional force. Where is the probability of polyphyletic convergence of behaviour whether by gain or by loss, or of a merely superficial divergence in metabolism, so great? To announce a "katabolic evolution" of bacteria is a platitude; to suggest that the conception in any way assists phylogenetic orientation of metabolic phenomena is untrue. The unvarnished fact is that, despairing of adequate classification on the basis of morphology, bacteriologists have, at first apologetically, then vaunting their very vice, set about the construction of a physiological, or partly physiological, system for no sounder reason than its tempting facility.

The investigation of microbic behaviour supplies a multitude of apparent clues to phylogenetic relationships — but many of these are doubtless false clues. It is the duty of the taxonomist to follow up these clues and to gain from them what guidance he can, but never to mistake them for "evidence on which a jury could convict".

Before proceeding further, a comment on taxonomic methods and the general application of criteria seems called for. In setting about a classification, two fundamentally different methods of approach present themselves. The first might be described as "analytic", beginning with the major cleavages of the bacterial world and thence working downwards by repeated subdivision to the smaller: such is essentially the principle underlying the so-called "determinative" systems, which aim at effecting the sharpest definition and at allowing the readiest recognition of any named group, species, or variety. The system of Kluyver and v. Niel, though it pulls up short at the definition of spacious genera, is clearly committed to this course. The liability of such a system to grievous error is proportional to the ambition of its major subdivisions.

The second method might be termed "constructive". Here the system must develop from multiple foci of intensive study, gradually widening

until they become confluent, when an opinion may be formed as to the rational groupings of larger size. Such a system must be built slowly, but it would be laid on sure foundations and its phylogenetic errors would be those of detail only.

The strongest objection is to be made to the definition of any unit or group on negative characters.

The separation of groups on a '+ versus —' basis is also a dubious proceeding, in that the negative state may have been derived by a relatively trivial loss from the positive. Where the contrast takes the form '+ — versus — +', the argument is greatly strengthened, but the most impressive contrasts are those between directly opposing positive qualities, of the form 'A versus B'.

Turning to morphology: it is evident that in the case of bacteria the limited criteria available for differential purposes are not worth, or may not be worth, their entire face value. In a realm of such morphological simplicity, the possibility of polyphyletic convergence of form and structure, particularly by simplification (loss of flagella, of endospores, of capsule) is self evident — and such changes are known to occur under laboratory conditions.

The argument between the morphologists and physiologists, staged by Kluyver and v. Niel, is a duel of retiarius and secutor: modern armaments of taxonomic bacteriology are barred from the arena; the fact that, for a good many years, medical research workers have been studying bacterial relationships on a totally different basis is unmentioned.

It is very true that the actual contribution of immunological and immunochemical research to taxonomy is as yet trivial: no single genus — with the possible exception of Salmonella — has yet been adequately studied, nor the measure of its relationships to other genera determined; but it has been shown beyond question that bacterial relationships may be determined by serological and immunochemical methods and it is unlikely that matters will rest at this preliminary stage.

At present the serological and immunochemical method is, by other default, mainly a monopoly of medical science: that its application has been largely limited to bacteria of medical interest is hardly a matter for which the medical research worker is to be held responsible. In need of precise methods for recognition and differentiation of bacteria, medical investigators, finding cultural, morphological and biochemical characteristics, if very useful, an inadequate and unreliable guide, have undertaken, by the best means available, a comparative analysis of the substance of the organisms in which they are immediately interested. So have developed the scattered rudiments of a "substantive" classification of bacteria (the term "substantive" is in every way preferable in this connection to "serological").

Primary studies have dealt with the agglutinative and other serological properties of the bacterial surface — in which maximal specificity is located. Analysis of the flagella and superficial somatic antigens has shown that certain groups of bacteria present a large number of elementary species — some given by historic precedent the rank of taxonomic species, some more conveniently accounted sub-specific; some common, some rare; some associated with particular types of disease, others of diverse pathogenic activity or apathogenic.

Against this resolution of bacterial groups a plaint — vocal if unprinted — has gone up, particularly from those engaged in the teaching and routine practice of bacteriology, that serological research has rendered classification intolerably complex. The effect, it may be urged, has been entirely in the contrary direction. The teacher has, in fact, been given a precise statement of what is important, what relatively unimportant; the diagnostician has merely been warned of pitfalls into which, as the literature testifies, his predecessors went headlong. That either should really hanker after the shapeless simplicity of past chaos, or should desire to compromise twixt fact and falsehood, is inconceivable.

Study of the normal bacterial surface has forwarded particularly the identification and differentiation of bacteria. To some extent it has also assisted their rational grouping. In the salmonella series, for instance, serological study has disclosed a web of antigenic relationships which bring a long series of diverse types into coherence. Further, the study of these organisms has given some insight into the evolutionary tendencies, substantive, morphological and metabolic, within a restrictedly parasitic group.

But, just as in higher animals and plants, specific peculiarities are concentrated at the surface in contact with the exterior, while the internal organs remain generalized in character, so does the high differentiation of the surface of the bacterium contrast with the broad group-specificity of its core. Some of the properties of the core may be studied by the serological reactions of intact but degenerate bacteria — the so-called R and ϱ forms — which have lost in varying degree the power to synthesise the more superficial and specific antigens and which accordingly display the more generalized serology of deeper elements. At each stage in such degeneration a new and wider world of serology is entered.

But the main prospect of effecting wide substantive groupings of bacteria lies in the chemical separation, in an active form, from bacteria of their various group-specific constituents — such for instance as the Q and T proteins which I have described for various bacterial groups. The actual information yet made available by such methods is fragmentary, but, such as it is, it is consonant and to the effect that the bacterium carries a large part of its pedigree blazoned in its living substance. Till these pedigrees have been perused, it is idle to speak of the necessity for a discredited basis of classification. How far the serological, immunochemical, and chemical study of the bacterial cell will eventually carry us remains to be seen; but there is distinct hope that, in some cases at least, it will take us to the limits of tangible morphological differentiation.

It may be argued, against the serological method, that it does not escape the defects which render the physiological method suspect. Striking instances of serological convergence are known — between proteus bacilli and Rickettsia, bacteria and yeasts, pneumococci and pneumobacilli, and so on. In all such known cases — all I believe affecting the polysaccharide complex — morphology comes to the rescue; in some cases at least chemistry also. Moreover crossreactions of the superficial constituents of the bacterium, which are incompatible with those of the deeper substance, may at once be discounted as convergent.

It is to be frankly agreed that serological or other substantive identification of each and every organisms must remain outside the scope of the routine laboratory: of what service then is a classification on such a basis?

Certainly this: that once the natural order of the bacterial world is ascertained, cultural and metabolic differences will take on a new differential and diagnostic value; the course of past metabolic evolution and the order in which biochemical criteria must be applied for purposes of differentiation will be fixed; the choice of criteria will no longer be arbitrary and in each instance the substance of the organisms will offer, in case of necessity, a final court of appeal.

Substantive and serological taxonomy, undeveloped as it is, has strength in the general unanimity of its students: with rare and glaring exceptions, they are in agreement as to the facts and as to their interpretation. It is improbable that medical bacteriologists will abandon the structure to which they have set their hand, or that nonconformity of others will influence their course.

It is greatly to be hoped that experts in all fields of bacteriology will seriously consider and investigate the possibility of a serological and substantive basis for bacterial taxonomy, improving on and adding to the methods at present available. The present call is not for newer, more ingenious, more pretentious, systems of classification, but for patient and incisive investigation.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Bernhauer, K., Gärungschemisches Praktikum. XVIII + 249 S. m. 27 Abb. Berlin (Verlag Jul. Springer) 1936. Pr. 12.60 RM.

Das Büchlein ist als Einführung in die Gärungschemie gedacht und gibt Anleitungen zur laboratoriumsmäßigen Durchführung der verschiedenen Gärprozesse.

Einleitend wird kurz auf die geschichtliche Entwicklung und Bedeutung der Gärungschemie sowie auf ihre theoretischen und praktischen Aufgaben eingegangen, sodann werden die Züchtungs-, Kultivierungs- und Untersuchungsmethoden der Gärungsorganismen und die Gärtechnik beschrieben. Der Hauptteil enthält etwa 140 einzelne Übungsbeispiele, in 53 Übungen angeordnet, denen jeweils kurze theoretische Erörterungen über den Chemismus der betreffenden Gärungsform sowie über die präparative Bedeutung bzw. die Technologie derselben angeschlossen sind. Die Übungsbeispiele sind in 4 Gruppen gegliedert: die Hefe-, die anoxydativen Bakterien-, die oxydativen Bakterien- und die Schimmelpilzgärungen. Der Anhang enthält eine Übersicht der Einrichtungen für die Durchführung gärungschemischer Arbeiten, Hinweise laboratoriumstechnischer Art, Umrechnungstabellen und Leitlinien für Protokolle.

Hinsichtlich der Zellulosegärungen ist zu sagen, daß auf Grund letztjähriger Untersuchungen diese sehr wohl mit absoluten Reinkulturen durchführbar sind.

Obwohl die Biochemie eine noch junge Wissenschaft ist, so zeigt doch gerade dieses Praktikum, wie mannigfach die Möglichkeiten sind, auf dem Wege über die Gärungen bestimmte wissenschaftliche und auch technisch wichtige Produkte zu erhalten.

Wenn im Rahmen dieses Praktikums die bakteriologischen Arbeiten nicht die Berücksichtigung finden, die den gärchemischen zuteil wird, so ist das verständlich. Es sollte aber gefordert werden, daß der Praktikant, bevor

er sich mit diesen „Übungen“ befaßt, den Nachweis genügender Kenntnisse und Erfahrungen auf dem Gebiete der allgemeinen bakteriologischen Technik zu erbringen hat.

Alle Biochemiker und Mikrobiologen werden dem vorliegenden Praktikum das größte Interesse entgegenbringen. Stapp.

Melin, E., Methoden der experimentellen Untersuchung mykotropher Pflanzen. — Abderhalden, E., Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. XI. Teil 4. Heft 6. Lief. 455. 93 S. Berlin und Wien (Verl. Urban & Schwarzenberg) 1936. Preis brosch. 5 RM.

Da das Studium der Mykotrophie meist von physiologischen Gesichtspunkten aus erfolgt, sind in vorliegender Lieferung hauptsächlich die Methoden behandelt, die bei physiologischen Untersuchungen angewandt worden sind. In guter Auswahl und kritischer Zusammenstellung werden die einzelnen Methoden aufgeführt, wobei Verf. sich in erfreulicher Weise streng an die Darstellung des Methodischen hält, jedoch nicht ohne kurze Hinweise auf die theoretische Frage zu geben. Sehr viele Angaben des Verf.s stützen sich auf langjährige eigene Erfahrungen.

Im 1. Teil der Arbeit werden die Methoden behandelt, die zur Isolierung der Pilze bei den verschiedenen Gruppen von Pflanzen verwandt werden. Dann folgt eine Zusammenstellung aller bisher bekannten Pilze, von denen experimentell bewiesen ist, daß sie Mykodomatien bilden können. Weiterhin werden die Züchtungsmethoden sowie die Methodik zur Identifizierung des isolierten Pilzsymbionten beschrieben. In dem Kapitel „Physiologische Kulturversuche“ werden diejenigen Methoden beschrieben, die bei gewissen aktuellen Untersuchungen über die Physiologie der Mykorrhizapilze zur Anwendung gelangt sind, wie Einfluß von Wuchsstoffen und verschiedenen Stickstoff- und Kohlenstoffquellen auf die Entwicklung der Pilzsymbionten sowie die Frage der Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch Pilze in Reinkultur. Im übrigen verweist Verf. auf die mikrobiologische Literatur, da für ernährungsphysiologische Studien die in der Mikrobiologie gebräuchlichen Methoden angewandt werden.

Teil 2 bringt die Methoden zur Untersuchung der höheren Symbionten, wie die Gewinnung aseptischer Samen, bzw. Früchte und Sporen, die Verfahren zur Reinkultivierung von Orchideen, Erikazeen, Waldbäumen und anderen mykotrophen Pflanzen sowie die Züchtung von Pflanzen in Reinkultur aus Brutknospen und Stecklingen.

Im 3. Teil werden die Untersuchungsverfahren über das Zusammenleben von Pilz und Pflanze in Reinkultur ausführlich beschrieben.

Abschließend bringt Verf. die Beschreibung einer Kulturkammer zum Studium mykotropher Pflanzen von A. B. Hatch, weil dieser Kulturapparat der beste sein soll, der bisher verwandt wurde.

Das vorliegende Heft kann über seinen eigentlichen Zweck hinaus allen denen empfohlen werden, die höhere Pflanzen steril kultivieren wollen.

Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Schmidt, M., Die Schädlinge des Obst- und Weinbaus. 85 S., mit 45 Farbenbildern auf 2 Taf. und 24 Photos. Frankfurt a. d. O. (Verlag Trowitzsch u. Sohn) 1936. 4. Auflage des Freiherr von Schillingschen Werkes. Preis 3 RM.

Vorwiegend für die Praktiker geschrieben, enthält das ausgezeichnete

Büchlein auf engstem Raume in klarer übersichtlicher und völlig ausreichender Form Angaben über die Biologie der tierischen Schädlinge, die Art der Schädigungen und über Methoden zur Bekämpfung derselben. Auch den Nützlingen ist ein kurzer Abschnitt gewidmet. Es folgt eine Bestimmungsübersicht der Schädlinge (nach Wirtspflanzen) und ein Verzeichnis der deutschen und eines der lateinischen Namen. Die neuen Bildbeigaben stehen den alten v. Schillingschen in keiner Weise nach. Stapp.

Gmelins Handbuch der anorganischen Chemie. 8. Auflage. System Nr. 4. Stickstoff. Lief. 4. 184 S. Herausgegeb. v. d. Deutschen Chemischen Gesellschaft. Berlin (Verlag Chemie) 1936. Preis 33.50 RM.

In dieser 4. Lieferung (s. Besprechung der Lieferung 1—3 in Bd. 93, S. 142, Bd. 94, S. 178 und 522 dieser Zeitschrift) sind bearbeitet die Stickstoffverbindungen Nitroxyl HNO, Dioxyammoniak $NH(OH)_2$, Hydroxylamin NH_2OH, Nitrohydroxylamin $H_2N_2O_3$, Nitrosohydroxylamin $H_2N_2O_2$ (?), Nitramid NO_2NH_2, Nitrosamid $NONH_2$ (?), Untersalpetrige Säure $H_2N_2O_2$, Salpetrige Säure HNO_2, Persalpetrige Säure HNO_3 (= O=N–O–OH), Salpetersäure HNO_3, Persalpetersäure HNO_4 und zum Schluß N–O–H-Verbindungen zweifelhafter Existenz.

Für die Mikrobiologen von besonderer Bedeutung sind die hier aufgeführten Methoden zum Nachweis und zur Bestimmung von Salpetersäure und salpetriger Säure nebeneinander.

Was auch dieses Heft auszeichnet, ist die anzuerkennende Gründlichkeit der Bearbeitung unter Heranziehung einer außerordentlichen Fülle von Literatur. Stapp.

Glück, H., Pteridophyten und Phanerogamen. In **Pascher**, Die Süßwasserflora Mitteleuropas. Heft 15. 1936. XX + 486 S., 258 Textabb. Taschenform. Jena (Verl. G. Fischer). Preis brosch. 18, geb. 19,50 RM.

Der wie alle Vorgänger der Pascherschen Süßwasserflora in gefälliger Hülle vorliegende Farn- und Phanerogamen-Band stellt nicht nur für den Systematiker und Floristen, sondern auch für all diejenigen eine willkommene Neuerscheinung dar, die mit offenen Augen in dem vielseitigen hydrobiologischen Arbeitsgebiete unmittelbar oder mittelbar tätig sind; wir erinnern an dieser Stelle an die junge allgemeine Hydrobakteriologie. Mit ihrer Vorlage schließt sich eine vielseitig sehr störende Lücke unseres Schrifttums. Dabei ist neben der eingehenden Art und Weise der Behandlung des oft schwer zu klärenden und zu gliedernden Stoffes und der reichlich beigegebenen bildlichen Darstellungen die Ausweitung der Bearbeitung auf den gesamten europäischen Kontinent besonders hervorzuheben, zumal sie an Hand der ausführlich gebrachten Verbreitungsangaben sehr interessante pflanzengeographische Gesichtspunkte zu vermitteln vermag. Daß es bereits jetzt vereinzelt Nachträge zu bringen möglich ist, kann angesichts des sehr zerstreuten Schrifttums und der Fülle des Stoffes fast als selbstverständlich betrachtet werden. Der seit Jahrzehnten mit seinem Thema vertraute Verf. ist bei seiner Darstellung so vorgegangen, daß die echten Wasserpflanzen ausführlich, die Sumpfgewächse mehr kursorisch behandelt worden sind und die kritischen Formenkreise häufig eine Neugestaltung erfahren haben, so daß, abgesehen vom handlichen Format, eine Spezialflora vorliegt, der selbst

in der Weltliteratur nichts gleichwertig an die Seite zu stellen ist. Verwiesen sei beispielsweise auf Gattungen wie Isoetes, Sparganium, Potamogeton, Ranunculus, Nymphaea, Callitriche usw. Auch die in einzelnen Gruppen nicht seltenen Bastarde sind in ausführlichen Diagnosen angeführt. H. Beger (Berlin-Dahlem).

Schmalfuß, K., Das Kalium. (Naturwissenschaft und Landwirtschaft. Heft 19. Verlag Dr. F. P. Datterer u. Cie. Freising-München 1936. 98 S.) Einzelpreis RM 2.80, Subskriptionspreis RM 2.10.

Die Reihe der Abhandlungen aus Naturwissenschaft und Landwirtschaft hat durch die vorliegende Studie über das Kalium eine wertvolle Bereicherung erfahren. Verf. ist dem gesetzten Ziel, die vorliegenden Einzeluntersuchungen möglichst vollständig zu erfassen und einheitlich kritisch zu verarbeiten, weitgehend gerecht geworden.

Der physiologischen Funktion des Kaliums und darüber hinaus allgemein dem Kationenproblem im Stoffwechsel der Pflanze ist entsprechend ihrer wissenschaftlichen Bedeutung ein breiter Raum zugestanden; in klarer Trennung hiervon sind die Aufgaben herausgestellt, die sich aus den Erkenntnissen der Ernährungsphysiologie für die Pflanzenernährungslehre hinsichtlich des Kaliums ergeben. Es ist zu begrüßen, daß in dieser Anordnung die engen und unteilbaren Beziehungen der reinen zur angewandten Wissenschaft und darüber hinaus zur landwirtschaftlichen Praxis an einem landwirtschaftlich- wie physiologisch-chemisch in gleicher Weise wichtigen Problem deutlich zum Ausdruck kommen. Pfeil (Dahlem).

Schultze, K., Das Ausblühen der Salze. Verlag Theodor Steinkopf, Dresden und Leipzig. 1936. 99 S.

Unter weitgehender Berücksichtigung der Literatur gibt der aus eigenen wissenschaftlichen Arbeiten auf diesem Gebiete bekannte Verf. eine zusammenfassende Darstellung der Verbreitung, Bedeutung und Ursachen von Salzausblühungen.

Die Anordnung des Stoffes ist glücklich gewählt; sie folgt der natürlichen Beobachtung dieser Erscheinung; ausgehend von den Bodenausblühungen und den Ausblühungen der Baustoffe mit ihren Beziehungen zu Klima und Mikroklima werden Erklärungsversuche des Ausblühungsmechanismus besprochen, um dann in der Kapillartheorie des Ausblühens und dem Einfluß der Dispersität die kapillar- und kolloidchemische Seite des Problems zu beleuchten.

Die enge Verknüpfung des Vorgangs mit den allgemein wirksamen Erscheinungen der Verdunstung, Diffusion und Kapillarität macht die Schrift über den Kreis der unmittelbar interessierten Fachleute aus Bodenkunde, Baugewerbe, Kapillar- und Kolloidchemie hinaus auch für Biologen lesenswert. Pfeil (Dahlem).

Allgemeines und Methodisches.

Schoop, G., Trennung von Anaerobiern und Sauerstoffzehrern im Fortner-Verfahren durch Glasplatte. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 509—511.)

Das Fortner-Verfahren wird unter Verwendung von getrennten Nährböden für Anaerobier und Sauerstoffzehrer durchgeführt. Die Trennung erfolgt durch eine durchlöcherte runde Glasscheibe, deren Durchmesser um

ein geringes größer ist als der der Nährbodenplatten. Der Verschluß wird mittels Plastilinstreifens hergestellt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schmidt, J. S., Über eine Abänderung der Färbung nach Ziehl. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 505—506.)

Verf. verwendet eine Fuchsinlösung folgender Zusammensetzung:

Fuchsin (Substanz)	1 g
Aqu. dest.	50 g
Glyzerin	45 g
Phenol. liquid.	5 g

Durch den Glyzerinzusatz ist selbst bei starker Erhitzung kein Eintrocknen bzw. Einbrennen zu befürchten. Außerdem greift diese Lösung den Wachsmantel der Tuberkelbakterien färberisch besser an als die gebräuchliche Ziehl-Lösung. Es genügt Heißfärbung von 1 Min., bei dünnen Präparaten schon ½ Min.

Die Säuerung und Kontrastfärbung sind zu einem Prozeß vereinigt unter Verwendung folgender Lösung: gesättigte methylalkoholische Methylenblaulösung 100 ccm, darin unter ständigem Schwenken gelöst 15 Tropfen Acid. sulf. conc. Es genügt bereits eine Einwirkungsdauer von ½ Min., andererseits übt selbst 20 Min. lange Einwirkung noch keinen schädlichen Einfluß aus.

Die Tuberkelbakterien erscheinen leuchtend rot auf zartblauem Grunde.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Tabeyi, K., Beiträge zur Geißelfärbung der Typhusbazillen mit Viktoriablau (4 R). (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 60—63.)

Da es gelingt, allerfeinste, schwer nachweisbare Virusarten durch Viktoriablau ohne jede Beizung sichtbar zu machen, wurde versucht, auf diese Weise Bakteriengeißeln zur Darstellung zu bringen. Dies war trotz Verlängerung der Färbezeit nicht möglich. Mit Beize aber ergaben sich schöne Bilder. Verf. bewährte sich folgende Beize: 100 ccm einer 20 proz. Tanninlösung werden mit 50 ccm kalt gesättigter wäßriger Ferrosulfatlösung und 3 g Viktoriablau (4 R) vermischt, worauf 1 Std. lang im Wasserbad bei 60° erhitzt wird. Die Lösung ist erst nach 7 tägigem Stehen verwendbar und vor Gebrauch zu filtrieren. Man beizt 4—5 Min. unter Erwärmen, bis die Flüssigkeit zu rauchen beginnt. Nach Abspülen des Präparates mit einem kräftigen Strahl Leitungswasser filtriert man auf den Objektträger 10 Tropfen einer 3 proz. Viktoriablaulösung, läßt den Farbstoff 13—15 Min. bei Zimmertemperatur einwirken, spült mit einem Wasserstrahl ab und mikroskopiert.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Barthel, Chr., A new method of differentiating biochemically the Coli and Aerogenes groups of bacteria. (Lantbruks-Högskolans Annaler. Vol. 3. 1936. p. 179—189.)

Da einerseits vom hygienischen Standpunkt eine sichere Unterscheidung des Bact. coli von Bact. aerogenes zu fordern ist, andererseits aber die bisher gebräuchlichen differentialdiagnostischen Methoden hierfür nicht immer ausreichen, hat Verf. eine neue ausgearbeitet. Sie beruht auf der Feststellung, daß Bact. aerogenes in Milchkulturen stets destillierbare jodbindende Substanzen bildet, Bact. coli dagegen nicht. Sehr wahrscheinlich werden diese Stoffe hauptsächlich aus Acetyl-methylcarbinol bestehen. Von allen 43 untersuchten Stämmen ließ sich so nur

einer, nämlich Bact. acidi lactici Hueppe, weder zur Coli- noch zur Aerogenes-Gruppe stellen. Er nimmt nach wie vor eine Mittelstellung ein.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Hegedüs, H., Vitale Färbung von auf farbstoffhaltigen Nährböden gewachsenen Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 138. 1936. S. 99—104.)

Auf farbstoffhaltigen Nährböden gewachsene Bakterien vermögen den Farbstoff in ihren Leibern zu konzentrieren. Die Aufnahme des Farbstoffes erfolgt nach den quantitativen Gesetzmäßigkeiten der Adsorption. Der gebundene Farbstoff beeinträchtigt bis zu einer bestimmten, je nach der Empfindlichkeit des betreffenden Stammes variierenden Grenze die Lebensfähigkeit der Bakterien nicht. Wird diese Grenze überschritten, so leidet die Beweglichkeit und Vermehrungsfähigkeit mehr oder weniger stark. Andererseits scheinen bereits geschädigte, vor allem aber abgetötete Bakterien mehr Farbstoff aufzunehmen.

Bakterienstämme von extrem abweichender Toleranz gegenüber dem gleichen Farbstoff zeigten keinen Unterschied hinsichtlich der Farbstoffspeicherung. Die Farbstoffestigkeit bzw. Farbstoffempfindlichkeit der Bakterien kann daher nicht durch verändertes Adsorptionsvermögen der Zellen erklärt werden. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hulpoi, N., Demonstration von Mikroorganismen der Rhizosphäre vermittels der Aufwuchsplattenmethode nach Cholodny. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 7. 1936. S. 579—583.)

Vermittels der Cholodnyschen Bodenplattenmethode lassen sich, wenn die Objektträger so angebracht werden, daß die Pflanzenwurzeln darüber wachsen, Bakterien unmittelbar an den Wurzelhaaren sitzend nachweisen; in einem Falle fanden sich richtige mantelförmige Auflagerungen unmittelbar auf den Wurzelhaaren, in anderen Fällen starke Bakterienanhäufungen in deren unmittelbarer Nähe.

Im übrigen konnten keine besonders faßbaren Unterschiede in verschieden gedüngten Böden vermittels der Bodenplattenmethode festgestellt werden. In Heidesandboden herrschten Kokken vor, in reicheren Böden Stäbchen, Aktinomyceten und Pilze. Diese werden besser von Erythrosin, Kokken dagegen besser von Romells blauem Farbstoff gefärbt.

Rippel (Göttingen).

Davis, J. G., Notes on the preparation of media, etc. (Nat. Inst. f. Res. in Dairying, Reading.) (Proc. Soc. of Agr. Bacteriologists, Juli 1936. Sonderdruck Nr. 380.)

Zunächst behandelt Verf. die Verfahren, um Nährböden auf Sterilität zu prüfen, wobei der Lackmusmilch mit Peptonzusatz besondere Aufmerksamkeit gebührt. Als Ursache für die Infektion derselben konnte der Gehalt des verwendeten Peptons an hitzeresistenten Sporenbildnern gefunden werden. Auch der Zucker kann solche Infektionen zur Folge haben. Zur Abhilfe dieser Übel empfiehlt Verf. die sog. momentane Autoklavier-Methode in der Weise, daß man zunächst auf 120° erhitzt und den Dampf dann abstellt. Dann bleibt die Temperatur während 20 bis 30 Minuten auf über 100° C stehen. Was die Art des Peptons für bakteriologische Zwecke betrifft, so ist kristallinisches besser als pulverisiertes, da es weniger infiziert ist. Weiterhin gibt Verf. einige Rezepte an

für die Herstellung von Nährböden aus verdauter Milch und Casein, die besonders für die Kultur von Strept. thermophilus, Strept. cremoris und Lactobacillus bulgaricus geeignet sind. Im 4. Teil behandelt Verf. die Einstellung der Wasserstoffkonzentration von neutralen Bierwürzenährböden. Jeder Bierwürzenährboden ist in allen Fällen nach der Autoklavierung nochmals auf das tatsächliche Vorliegen neutraler Reaktion nachzuprüfen. Der 5. Teil handelt von speziellen Lackmusmilchnährböden. Für die Kultur tierischer und menschlicher Krankheitserreger ist 1% Blut-Hefewasser-Glukose-Lackmusmilch sehr geeignet, für Milchsäurebakterien aus Maische, Bier und Wein 5proz. Bierwürze-Lackmusmilch + 5% Hefeautolysat. Was die Aufbewahrung von Milchsäurebakterien-Reinkulturen betrifft, so hat sich Lackmusmilch mit 3% reinen Calciumkarbonats am besten bewährt. Wenn nach Auftreten sichtbaren Wachstums die Röhren aus dem Thermostaten genommen und bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, bleiben selbst so empfindliche Typen, wie Strept. thermophilus und Lactob. acidophilus 3 Monate lang am Leben, Strept. lactis, Strept. cremoris und Lactob. casei mindestens 1 Jahr. In den letzten Kapiteln werden Fragen der geeigneten Milchtitration für die Herstellung von angedauten Milchnährböden und verschiedene andere Spezialmethoden zur p_H-Einstellung von Nährböden behandelt.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Naito, R., Ein neues Verfahren zum Nachweis des bakteriophagen Lysins. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 152—163.)

Bei einer vergleichenden Untersuchung aller bisher veröffentlichten, auf festem oder flüssigem Nährboden ausführbaren Nachweismethoden des bakteriophagen Lysins lieferte die „anreichernde Methode" nach Iwase und Nagai die besten Resultate. Dieses Verfahren ist jedoch ziemlich umständlich zu handhaben, weshalb Verf. folgende Vereinfachung ausarbeitete: Auf den Boden eines Schrägagarröhrchens bringt man zuerst 0,2—0,5 ccm der zu prüfenden Bakteriophagenbouillon und anschließend die gleiche Menge Bakterienaufschwemmung in einer Konzentration von 0,1—1,0 mg/l ccm (wobei eine Verunreinigung der Agaroberfläche durch die Bakterienaufschwemmung zu vermeiden ist). Nachdem 6—9 Std. bei 37° in senkrechter Stellung bebrütet worden ist („Anreicherungsbebrütung"), wird das Röhrchen umgelegt, um die Schrägagaroberfläche mit dem Lysin-Bakterien-Gemisch anzufeuchten. Abermalige Bebrütung auf 12—24 Std. bei 37°.

Dieses Vorgehen ermöglicht, selbst noch Spuren von Lysin durch die Anreicherung nachzuweisen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schuurman, C. J. und **Schuurman-ten Bokkel Huinink, A. M.**, Das Enteiweißen, Konzentrieren und Sichtbarmachen von Bakteriophagen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 264—268.)

Das Enteiweißen von Bakteriophagen zum Zwecke nachfolgender Konzentrierung war stets mit einem Titerverlust verbunden.

Das Konzentrieren von Bakteriophagen gelang leicht durch Filtrieren von Uschinsky-Lysaten durch Eisessig-Kollodion-Membranen von bestimmter

Porenweite (die Bereitung der mit chinesischem Papier verstärkten Membranen wird genau angegeben).

Die zuerst von Schlesinger wahrgenommene Erscheinung, daß Phagen im Dunkelfeld in optisch leerem Milieu sichtbar werden, konnte unter Verwendung einer bestimmten optischen Apparatur bestätigt werden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schmidt, W., Versuche zur Färbung von Virusarten mit Viktoriablau. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 260—263.)

Die bei Pocken und Herpes mit Erfolg angewandte Viktoriablaufärbung ist für die Darstellung anderer Virusarten (Stomatitis vesicularis, Maul- und Klauenseuche, Hühnerpest) nicht geeignet, was offenbar durch die Kleinheit dieser Erreger bedingt ist.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Searls, M., and **Harris, H.**, Handy insect cages made from cellophane. (Journ. econom. Entom. Vol. 29. 1936. p. 1158—1160, 1 Fig.)

Beschreibung von Käfigen aus Cellophan, um Insekten an Zweigen der lebenden Pflanze einzuschließen. Ein Fenster aus Gaze dient zur Lufterneuerung. Das Cellophan muß permeabel für Feuchtigkeit sein, da andernfalls kleine Insekten an der Wand festkleben. Die Methode hat vor den üblichen Gazesäckchen den Vorteil, daß man sehen kann, was drinnen vorgeht.

K. Friederichs.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Fliegel, G., Entwicklungsvorgänge in Reinkulturen von Bacterium coli. [Neue morphologische Ergebnisse über Bakterieninhaltskörper und Amöbenformen.] (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 7. 1936. S. 491—550.)

Verf. untersuchte eingehend an Flüssigkeits- und Agarkulturen von B. coli die Entwicklungsvorgänge. Es wurde im Hell- und im Dunkelfeld beobachtet; die Agarkulturen wurden mittels der Agarfixierungsmethode von Kuhn fixiert und nach Färbung untersucht. Das Bakteriophagen-Experiment konnte nicht dargestellt werden.

Geblähte und abgekugelte Bakterien fanden sich vereinzelt in normalen Bouillon- und Agarkulturen. Durch Einwirkung von Lithium konnten die bekannten Amöbenformen und Knöpfchen dargestellt werden. Ohne daß die vielen Einzelheiten, die im Original einzusehen sind, hier angeführt werden können, sei erwähnt, daß Verf. sowohl zur Ablehnung der Löhnisschen Sexualitätstheorie, der d'Herelleschen und der Kuhnschen Bakteriophagentheorie kommt. Alle anomalen Veränderungen erklärt er als Vergiftung durch Stoffwechselschlacken, als welche er die als Gonidien, Parasiten usw. gedeuteten Körnchen auffaßt, die in absterbenden Zellen auftreten (im Dunkelfeld sichtbar!) und sich auch frei in der Lösung finden. In den Amöbenformen erblickt er einen Auflösungsvorgang, der lediglich durch den Lithiumzusatz einen höheren Grad erreicht als bei den auch in normalen Kulturen sich findenden deformierten Zellen. Die Knöpfchen bestehen aus Amöbenformen bei geringerem Wassergehalt und stellen lediglich eine besondere Form des Auflösungsvorganges dar.

Obwohl die schon vor einigen Jahren angefertigte Arbeit in mancher

Hinsicht bereits etwas überholt ist, ist sie doch durch die sehr eingehende Beobachtung der gesamten Entwicklungsvorgänge von besonderem Wert und wird hoffentlich mit dazu beitragen, daß die immer noch verbreiteten pleomorphistischen Gedankengänge mit etwas stärkerer Kritik vorgetragen werden. Rippel (Göttingen).

Pjetursson, S. H., Die Artenunterschiede der wärmeliebenden langen Milchsäurebakterien - Thermobacterium (Jensen). Abhängigkeit von Nährboden und Umwandlungsversuche. Inaug.-Diss. Kiel. 1936. 72 S.

Das Thbct. lactis konnte in roher Milch nicht immer nachgewiesen werden, da es leicht von thermophilen Streptokokken überwuchert wurde. Leichter gelang die Isolierung aus erhitzter Milch. — Das typische Thbct. cereale konnte nicht von Getreide gezüchtet werden. Cereale-Stämme aus Hefefabrikmaische enthielten alle Volutin, jedoch nicht so viel wie Thbct. lactis-Stämme. Nach Untersuchung des Verf.s ist Thbct. lactis als der kräftigste Typus aller untersuchten Thermobakterien anzusehen. Die Volutinbildung und der Säurungsgrad von Kohlehydraten waren abhängig von der Verschiedenheit der Grundsubstrate. — Von einem Cereale-Stamm konnte eine Übergangsform zu Thbct. lactis durch längere Züchtung in Milch mit Kreidezusatz bei 37° C abgespaltet werden. Ähnliches wurde durch längere Züchtung in Milch mit Würzezusatz erreicht. Durch Darmpassage konnte ein Cereale-Stamm in einen Lactis-Stamm übergeführt werden. Thbct. helveticum war nicht im Menschendarm anzusiedeln. Die Auffassung Hennebergs, Thbct. lactis als Grundform der Gruppe Thermobacterium anzusehen, wird bestätigt. Thbct. bulgaricum, jugurt, helveticum und cereale haben als Abarten zu gelten. Meewes (Kiel).

Lodenkämper, H. und Geih, H., Studien über Enterokokken. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 270—279.)

Die Prüfung einer größeren Anzahl pleomorpher Streptokokkenstämme, die in der Hauptsache aus dem Rachen und aus menschlichen Wurmfortsätzen gewonnen worden waren, ergab folgendes: Sämtliche aus den Appendices gewonnene Stämme (47) sowie 13 von 58 aus den Rachenabstrichen waren galleresistent und schwärzten Äskulin. Die Spaltung von Saccharose, Laktose und Mannit geschah ziemlich wahllos, lediglich die Darmstreptokokken vergoren in der Mehrzahl der Fälle Mannit. Das Wachstum auf der Blutplatte gestattete eine Einteilung der Stämme in 5 Gruppen. Die galleresistenten und äskulinspaltenden Stämme verteilten sich mit wenigen Ausnahmen auf 2 Gruppen. Auf der Warren-Blutplatte zeigten sämtliche Stämme aus den Appendices gleiches Wachstum, ebenso 10 von den galleresistenten und äskulinschwärzenden Stämmen aus den Rachenabstrichen. Im übrigen konnten diese Stämme wiederum in insgesamt 5 Gruppen eingeteilt werden. Auf dem Kochschen Nährboden wuchsen in Übereinstimmung mit Koch nur die galleresistenten und äskulinspaltenden Stämme. Diese ließen sich in 5 Gruppen einteilen, die jedoch mit den von Koch angegebenen Typen nicht übereinstimmen.

Die serologische Untersuchung (Präzipitinreaktion) ergab kein verwertbares Resultat; sämtliche Stämme reagierten miteinander.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Barker, H. A., Studies upon the methane-producing bacteria. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 420—438.)

Die Mikroorganismen der Methanbildung werden beschrieben. Es handelt sich um 1. Methanosarcina methanica (Smit) Kluyver et van Niel; bildet sarcinaartige Pakete, bisweilen Tetraden und seltener Diplokokken. 2. Methanococcus Mazei nov. spec.; bildet kleine sphärische Einzelkokken, die in kleineren Gruppen oder größeren schleimigen Aggregaten zusammenliegen. 3. Methanobacterium Söhngenii nov. spec.: Stäbchen in langen Ketten, die parallel zu Bündeln zusammenliegen. 4. Methanobacterium Omelianskii nov. spec. Einzelstäbchen oder kürzere Fäden. Alle sind unbeweglich; Sporen werden nicht gebildet. Die Ansprüche an die Kohlenstoffquellen sind etwas verschieden.

Die Kultur gelingt schwierig; die Organismen sind extrem anaerob, was insbesondere bei Züchtung auf festem Substrat hervortritt; augenscheinlich tötet bereits kürzeste Berührung mit Luftsauerstoff ab. Eine geeignete Methode, die jede diesbezügliche Berührung ausschaltet, wird angegeben. Trotzdem gelang es nicht, absolute Reinkulturen zu erzielen, wenn auch einzelne Kolonien übertragen werden konnten. Immerhin ließ sich eine genügend genaue Beschreibung der Formen ermöglichen.

Rippel (Göttingen).

Fromageot, Cl. und Piret, E. L., Sur la nutrition azotée de quelques espèces de bactéries propioniques. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 7. 1936. S. 551—570.)

Die Untersuchung von 6 Arten der Propionsäurebakterien auf ihre Fähigkeit, rein anorganische Stickstoffverbindungen auszunützen, ergab bemerkenswerte Unterschiede: Ammoniumazetat konnte in Gegenwart von Glukose von Propionibacterium pentosaceum, Zeae, Thönii verwertet werden, während Freudenreichii, technicum und Shermani dazu nur in Gegenwart von Wachstumsstoffen (aus Mais gewonnen) befähigt waren. Bei Brenztraubensäure als Kohlenstoffquelle war die Gruppierung die gleiche, aber die Reihenfolge der Wachstumsintensität war eine andere. Bei Milchsäure als Kohlenstoffquelle endlich entwickelten sich ohne Gegenwart von Wachstumsstoffen die beiden erstgenannten sowie Pr. Shermani, während Thönii kein Wachstum zeigte.

Aminosäuren wurden viel schlechter verwertet als Ammoniak, woraus hervorgeht, daß diese lediglich über Ammoniak assimiliert werden.

Rippel (Göttingen).

Wohlfeil, T., Über Veränderungen des Eiweiß- und Reststickstoffgehaltes im Normal- und Immunserum unter der Wirkung lebender Bakterien (Micrococcus pyogenes aureus, Bacillus anthracis, Bacillus subtilis, Corynebacterium diphtheriae, Bacterium vulgare, Vibrio cholerae). (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 119. 1936. S. 119—133.)

Proteusbakterien bauen unter entsprechenden Versuchsbedingungen fortschreitend natives Serumeiweiß ab (innerhalb von 120 Std. 10^9 Bakterien = 1,75—3,37 mg/l). Die Reststickstoffvermehrungen nehmen dagegen in der Regel bis zum 3. Tage zu, um dann je nach der Menge der eingesäten Bakterien einen konstanten Wert zu erreichen. Der Eiweißabbau ergab, auf N bezogen, Werte, die rund 20—100 mal höher lagen als die entsprechenden

Werte des freigewordenen Reststickstoffs. Es wird deshalb angenommen, daß die Bakterien in den Perioden lebhafter Vermehrung Substanzen des Reststickstoffs für ihre Assimilationsvorgänge benötigen. Beachtliche eiweißabbauende Leistungen entfalten auch Milzbrandbazillen und Choleravibrionen, Diphtheriebakterien nur nach Aktivierung ihrer Proteasen (in Rinderserum mit Natriumphosphat gepuffert).

Immunseren hemmen die Autolyse der Bakterien und damit auch die Wirkung der Zellproteasen auf das Serumeiweiß stärker als Normalseren. Die Reststickstoffvermehrungen sind in Immunseren deutlich geringer als in Normalseren. Bei Proteus- und Staphylokokkenimmunseren konnten Immunantifermente gegen bakterielle Zellproteasen nachgewiesen werden. Die Hemmungswirkung der Immunseren erwies sich als spezifisch. Nach längerer Bebrütungszeit und bei Einsaat großer Bakterienmengen ist sie erschöpfbar.

Bei Natriumphosphataktivierung entstehen unter der Wirkung lebender Bakterien im Gegensatz zu den Beobachtungen am unveränderten aktiven Serum im Immunserum starke Eiweißverminderungen. Dies wird durch Zusammenwirken der aktivierten Abderhaldenschen Abwehrfermente und der aktivierten Bakterienzellproteasen zu erklären versucht.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Rippel, A., Eisen-, Agar- und Humuswirkung bei Azotobakter. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 7. 1936. S. 590—597.)

Bei Zusatz von Agar (0,1%), der, wie kürzlich gezeigt, Wachstum und Stickstoffbindung von Azotobacter chroococcum außerordentlich fördert, war auch die diesbezügliche Wirkung eines gleichzeitigen Zusatzes von Eisen sehr schön zu demonstrieren. Das Optimum lag bei 5—10 mg% Eisensulfat. Bei Vorhandensein von Molybdän ist diese Wirkung stärker als die von Humuspräparaten, die erst nach längerer Kulturdauer eine gewisse Überlegenheit über das anorganische Eisensalz zeigen. Die Agarwirkung wird in erster Linie als Kolloidwirkung aufgefaßt.

Rippel (Göttingen).

Nilsson, R., Zur Kenntnis des Stoffwechselmechanismus in Azotobacter chroococcum. I. Mitt.: Variabilität des Oxydoreduktionssystems bei Züchtung auf verschiedenen Nährböden. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 7. 1936. S. 598—612.)

Die Versuche wurden mit einem Trockenpräparat von Azotobacter chroococcum ausgeführt. Co-Zymase ist reichlich vorhanden; Hexosediphosphorsäure wird in typischer Weise als Wasserstoffdonator verwendet (Methylenblaureduktion). Doch gelingt die Trennung von Enzym und Co-Zymase nur sehr unvollkommen, was an einigen Besonderheiten bei Azotobacter liegt (leichte Auswaschbarkeit des Enzyms usw.). Weitere Versuche sollen Klarheit darüber bringen, ob der anoxybiotische Zuckerabbau sich in der gleichen Weise vollzieht wie in der Hefe.

Von besonderem Interesse ist, daß auf Glukose mehrmals gezüchteter Azotobacter kein auf Mannit eingestelltes Enzymsystem besitzt, solches aber bei wiederholter Passage auf Mannit gewinnt. Wie sich die Co-Zymase im Mannitsystem verhält, ist noch nicht bekannt. Da sie bei Züchtung auf Mannit beibehalten wird, so rechnet Verf. mit der Möglichkeit einer allgemeineren Funktion der Co-Zymase im Bakterienkörper. Von diesem Gesichtspunkt aus unternommene Versuche zur Züchtung von Azotobacter auf Succinat blieben leider erfolglos. Rippel (Göttingen).

Schanderl, H., Untersuchungen über sogenannte „Jerez-Hefen". (Wein u. Rebe, Mainz. Jahrg. 18. 1936. Nr. 1.)

Verf. unterzieht die Angaben von N. Prostosserdow und R. Afrikian einer Nachprüfung, da die Ergebnisse der russischen Forscher im Widerspruch mit den Literaturangaben stehen, nach denen die Kahmhefe Mycoderma vini das Bukett der Sherryweine hervorrufen soll. In Bestätigung der russischen Forscher stellte Verf. fest, daß die Jerrezhefe zur Gattung Saccharomyces gehört, hält es aber für nicht berechtigt, die Jerrezhefe als besondere Art aufzustellen, wie es die russischen Forscher getan haben. Merkwürdig mutet es an, wenn Verf. schreibt, daß die Hefe „den Alkohol zu Fett oxydiert".

Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Drews, B., Über die Autolyse einiger Kulturhefen. (Biochem. Ztschr. Bd. 288. 1936. S. 207—237.)

Im Hinblick auf die praktische Bedeutung der Proteolyse und Autolyse und damit der Haltbarkeit der Hefen wurden hierüber umfangreiche Untersuchungen angestellt, die sich vornehmlich auf den Einfluß von Wasserstoffionenkonzentration und Temperatur beziehen. Dabei konnte u. a. ermittelt werden, daß die Proteinasen von obergäriger Brennereihefe sowie ober- und untergäriger Bierhefe ihre maximale Wirkung bei verschiedenen p_H-Werten entfalten. Die obergärige Getreidepreßhefe, die zum gleichen Typus gehört wie die obergärige Brennereihefe, aber in einem anderen Medium gezüchtet wird, weist auch hinsichtlich der Autolyse ein ähnliches Reaktionsoptimum auf wie die Brennereihefe. Daraus wird der Schluß gezogen, daß die Verschiedenheit der Reaktionsoptima bei der Autolyse nicht durch Umweltfaktoren, sondern rassenmäßig bedingt sei.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Asthana, R. P., and Hawker, L. E., The Influence of Certain Fungi on the Sporulation of Melanospora destruens Shear and of Some other Ascomycetes. (Ann. Bot. Vol. 50. 1936. p. 325—345.)

Auf 3proz. Malzagar erfolgte die stärkste Perithezienbildung, für die Messung der Perithezienhäufigkeit erwies sich jedoch ein Glukose-KNO_3-Agar als zweckmäßig. Fehlen von N und P verhinderte die Fruktifikation, P-Mangel machte sich auch beim Myzelwachstum bemerkbar. Der eigentlich begrenzende Wachstumsfaktor war jedoch der Glukosegehalt, sein Absinken veranlaßte vorzeitige Bildung der Fruchtkörper. Entsprechendes konnte bei Nitrat und Phosphat nicht beobachtet werden. Schwankungen der H-Ionenkonzentration innerhalb des Bereiches von 4,8—7,6 waren ohne Einfluß auf Myzelwachstum und Fruchtkörperbildung, Übertragung auf schwächere Nährböden stimulierte das Fruchten. Die optimale Temperatur der Sporulierung lag bei 25° C, Schwankungen von 15—35° waren ohne Belang, ebenso wie Licht und Dunkelheit. Die im Dunkeln gebildeten Perithezien waren jedoch um die Hälfte kleiner als die im Licht gewachsenen. Durch mechanische Beeinflussungen ließ sich eine frühzeitige oder verzögerte Sporulierung auch nicht erzwingen. Die Reinkulturen wurden durch verschiedene Fusarien-, Penicillien-, Botrytis-, Rhizopus- u. a. Arten verunreinigt. Bezüglich ihres Einflusses auf die Fruchtbildung konnten 3 Gruppen unterschieden werden: die 1. veranlaßte eine frühzeitige Bildung gegenüber der Kontrolle, die 2. verhielt sich neutral, die 3. rief die Bildung eines Perithezienringes hervor, dicht an der Grenze des beigegebenen Pilzes. Im übrigen waren in dieser Gruppe größere Unterschiede bezüglich der Einwirkung vorhanden, einmal waren Art und Größe der Stimulation (positiv oder negativ) je nach Art des Pilzes ganz verschieden, also nicht Familienmerkmale der „Verunreiniger", dann spielte der Zeitpunkt des Einbringens eine große Rolle. Lösungen ohne Agar, auf denen Pilze gewachsen waren, beschleunigten ebenfalls die Perithezienbildung, in verstärktem Maße noch die ätherischen Auszüge. Ähnliche Beobachtungen wie an Melanospora destruens wurden auch bei anderen Pilzen gemacht. Verf. schließt aus den Untersuchungen, daß folgende 3 Fak-

toren für die frühzeitige Bildung der Fruchtkörper verantwortlich zu machen sind: 1. Mangel an Nahrstoffen, 2. Hemmstoffe, 3. Förderstoffe, wobei die beiden letztgenannten vom Schadpilz selber erzeugt werden. Skallau (Berlin).

Weindling, R. und Emerson, O. H., The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of Trichoderma. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 1068—1070.)

Aus dem für Rhizoctonia solani giftigen Filtrat von einer Kultur von Trichoderma konnten Verff. eine kristalline und eine amorphe gummiartige Substanz gewinnen. Die kristalline Substanz tötete in einer Verdünnung von 1 : 300 000 die Hyphen von Rhizoctonia ab. Nach der Analyse kommt der Substanz die Formel $C_{14}H_{16}N_2H_2O_4$ zu.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Schopfer, W. H. und Jung, A., Vitamines et facteurs de croissance chez les plantes. Recherches sur l'activité des produits d'oxydation de la vitamine B_1. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 7. 1936. S. 571—578.)

Es wurde versucht, Vitamin B_1 und den Faktor Bios durch Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd zu trennen, das war indessen nicht möglich. Kristallisiertes Vitamin B_1 verliert durch Wasserstoffsuperoxyd-Einwirkung seine Wirksamkeit auf Phycomyces, ebenso Extrakt von Weizenkeimen, der außerdem auch Hefe gegenüber unwirksam wird. Das Tiochrom, Oxydationsprodukt des Vitamin B_1, das unwirksam auf das Tier ist, ist dies auch für Phycomyces, oder wenigstens ist nur eine ganz schwache Wirkung vorhanden. Rippel (Göttingen).

Rippel, A. und Behr, G., Über die Entgiftung von Schwefelsäure in Kulturen von Aspergillus niger. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 7. 1936. S. 584—589.)

Sowohl bei Zusatz von freier Schwefelsäure wie auch bei Verwendung von Kaliumsulfat als Kaliquelle wird ein Teil des Schwefelsäure-Anions durch Aspergillus niger in organische Bindung übergeführt (abgesehen von der im Myzel verarbeiteten Menge), der sich also in der Nährlösung vorfindet. Bei hohem Zuckergehalt kann diese Menge 60% des zugesetzten SO_4-Ions betragen. Es besteht demnach die Möglichkeit, daß der Pilz beim Kaliumstoffwechsel die Ionen des Kaliumsulfats trennen kann, ohne daß frei werdende Schwefelsäure störend zu wirken brauchte.

Mit einsetzender Autolyse werden, bei Aufhören der Myzelbildung, noch verhältnismäßig große Mengen des in der Kulturflüssigkeit vorhandenen organisch gebundenen Schwefels vom Myzel aufgenommen bzw. dort weiter verarbeitet. Auf die Bedeutung, die diese Erscheinung möglicherweise für die Herkunft des in den Humusstoffen organisch gebundenen Schwefels haben könnte, wird hingewiesen. Rippel (Göttingen).

Pesch, K. L. und Schmitz, L., Untersuchungen über Züchtung und Systematik der „fusiformen Bakterien". (Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 136. 1936. S. 476—484.)

Aus Mundabstrichen mundgesunder und mundkranker Menschen wurden mittels Anaerobenkultur nach Koch 193 Reinkulturen fusiformer Bakterien gezüchtet. Die Ergebnisse der eingehenden Prüfung dieser Kulturen machen es wahrscheinlich, daß es im Munde des Menschen nicht verschiedene Fusobakterienarten gibt, sondern nur ein einziges „Fusiformes Bakterium".

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Bakonyi, St., Der gegenwärtige Stand der aceton-äthylalkoholischen Gärung. (Chemiker-Ztg. Bd. 60. 1936. S. 1021—1023, 1043—1045).

Die Fabrikation von Aceton durch Gärung ist von großer technischer und wirtschaftlicher Bedeutung. Die Acetongärung ist der klassische Vertreter der sog. Kondensationsgärungen. Bei der aceton-äthylalkoholischen Gärung werden Kohlehydrate von Hexosen bis einschließlich Stärke durch Bacillus macerans oder Bacterium aceto-aethylicum zu Aceton und Äthylalkohol vergoren. Die Ausbeute beträgt etwa 40% der angewandten Stärke, bei andern Kohlehydraten dem Äquivalent entsprechend. Der gewonnene Geist besteht bei dieser Maischekonzentration aus $\frac{1}{3}$ Aceton und $\frac{2}{3}$ Äthylalkohol. Wird die Konzentration erhöht, so fällt die Gesamtausbeute, aber das Verhältnis Aceton : Alkohol wird zugunsten des Acetons verschoben und zwar bis zu 1: 1.8 bis 1 : 1.6. Wird der Gehalt der Maische verringert, so erhöht sich die Gesamtausbeute, wobei das Verhältnis zugunsten des Alkohols verschoben wird. Der Weg der aceton-äthylalkoholischen Gärung verläuft über den Acetaldehyd und ist bis dahin der reinen äthylalkoholischen Gärung analog. Nachher wird ein kleiner Teil des Acetaldehyds durch den disponiblen Wasserstoff zu Äthylalkohol reduziert. Der überwiegende Teil wird zu Acetaldol kondensiert, das zu Äthylalkohol und Essigsäure dismutiert wird.

Verf. berichtet eingehend über die Praxis der Acetonbrennerei, die er als die Zukunftsform der Spiritusbrennerei betrachtet. Bei der Acetonbrennerei fällt die gleiche Menge Schlampe in gleicher Qualität an, die Alkoholmenge wird verringert zugunsten des wertvolleren und vielseitig verwendbaren Acetons. Die Acetongärung kann überall, wo Agrarprodukte zur Verfügung stehen, unbegrenzte Mengen von Aceton liefern. Dabei werden für die gleichen Spiritusmengen mehr als doppelt so viel Agrarprodukte verbraucht. Damit wird die Acetonbrennerei zu einem neuen Veredelungsverfahren für die Landwirtschaft. Für die Treibstoffwirtschaft ist interessant, daß das Gemisch aus Aceton und Spiritus ein höherwertiger Zusatz zu Benzin oder Benzol ist als Alkohol. Heuß (Berlin).

Barker, H. A., On the biochemistry of the methane fermentation. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 404—419.)

Die Tatsache, daß organische Stoffe unter Methanbildung zersetzt werden ohne Auftreten eines anderen Reduktionsproduktes zusammen, mit der Beobachtung von Söhngen über Methanbildung aus Kohlensäure und Wasserstoff durch Methanbakterien führen Verf. zu dem Schluß, daß alle Methanbildung durch Reduktion von Kohlensäure erfolge, wobei die organischen Substanzen als Wasserstoff-Donatoren auftreten:

$$4\ H_2A + CO_2 \longrightarrow 4\ A + CH_4 + 2\ H_2O.$$

Die Annahme erwies sich als richtig: Äthyl- und Butylalkohol werden zu Essigsäure bzw. Buttersäure (diese dann weiterhin zu Essigsäure) dehydriert unter äquivalentem Verschwinden von Kohlensäure und Auftreten von Methan.

Methanbildung aus Essigsäure dürfte sich in analoger Weise vollziehen; nur wird das Verschwinden von Kohlensäure verdeckt durch das gleichzeitige

Entstehen von Kohlensäure infolge völliger Dehydrierung der Essigsäure. Der Vorgang verläuft demnach folgendermaßen:

$$CH_3COOH + 2\ H_2O + CO_2 \rightarrow 2\ CO_2 + CH_4 + 2\ H_2O.$$

Essigsäure dürfte aber kein normales Zwischenprodukt der Methanbildung sein, sondern ein 1-C-Körper (Ameisensäure usw.).

Rippel (Göttingen).

Vercellana, G., Untersuchungen über den Hydrolasegehalt einiger Bakterien. (Trypsin, Kathepsin, Amylase, Lipase in Bacterium melitense, Bacterium paramelitense, Bacterium abortus, Bacterium paraabortus, Vibrio cholerae, Staphylococcus pyogenes aureus, Streptococcus pyogenes, Bacterium pyocyaneum. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 225—230.)

Trotz Anwendung der modernsten Technik konnten weder in dem Trockenmaterial noch beim Frischmaterial meßbare Mengen von Hydrolasen festgestellt werden. Es ist also anzunehmen, daß im allgemeinen in der Bakterienzelle keine Enzyme vorkommen, die mit dem Trypsin, Kathepsin, der Amylase und Lipase der tierischen Organismen vollständig identisch sind. Ebenso ist es wahrscheinlich, daß die Virulenz der untersuchten Bakterien in keiner Beziehung zu den genannten Enzymen steht.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Gildemeister, E., Untersuchungen über das Lysozym. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 408—412.)

Das Lysozym — nach Fleming eine fermentähnliche Substanz, die Bakterien abtötet und auflöst (insbesondere den Micr. lysodeicticus) — diffundiert im Gegensatz zu den Bakteriophagen im gleichen Medium glatt durch Zellophan. Die molekulare Größe des Lysozyms muß somit kleiner sein als die des Bakteriophagen. Diese Feststellung spricht gleichfalls dafür, daß zwischen Lysozym und Bakteriophagen keine Beziehungen bestehen.

Über die Bedeutung des Lysozyms im Haushalt des tierischen Organismus haben die Untersuchungen bebrüteter Eier (Lysozym findet sich besonders reichlich im Hühnereiweiß) und der Organe gesunder und erkrankter Mäuse auf Lysozymgehalt keinen befriedigenden Aufschluß gebracht. Die beobachteten Unterschiede im Lysozymgehalt haben nichts Gesetzmäßiges erkennen lassen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

den Dooren de Jong, L. E., Studien über Bakteriophagie. VI. Beruht die Fähigkeit eines Bakteriophagen, Bakteriensporen zur Phagenbildung zu reizen, auf einer Infektion mit diesem Bakteriophagen? (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 404—408.)

Wenn mehrere, zu verschiedenen Bazillenarten gehörende Bakterienstämme mit einer Phagenmischung behandelt wurden, deren Komponenten jede an sich aus denselben Bazillenarten isoliert waren, und die Stämme hierauf pasteurisiert wurden, so ergab sich, daß die verschiedenen Stämme nur durch ihre homologen Phagen zur Phagenwirkung „induziert“ wurden. So produzierte z. B. Bac. megatherium nach Pasteurisierung nur den Megatheriumphagen usw. Sporenphagen, Bakteriophagen also, die aus pasteurisierten Sporen isoliert sind, garantieren dadurch, im Gegensatz zu

allen anderen Phagen, ohne weiteres Reinheit. Diese Erscheinung wird als „Induktion“ bzw. „Resonanz“ aufgefaßt, d. h. es handelt sich um die Aufweckung einer in den Sporen schlummernden Fähigkeit der Phagproduktion zu merklicher Aktivität durch die Anwesenheit eines abgestimmten, also spezifischen Phagen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Yale, M. W., and Breed, R. S., Comparative fairness of single can and weigh vat samples of milk for bacterial counts as a basis of premium payments to grade A dairymen. (N. Y. Sta. Agr. Exp. Stat. Bull. Vol. 673. 1936. p. 3—22.)

Es zeigte sich bei der Untersuchung von rund 1300 Milchproben, daß Prämien für geringen Keimgehalt gelegentlich, wenn auch selten, dem Produzenten dadurch verlorengehen, daß seine Milch durch die vorher in dem Bassin befindlich gewesene Milch eines anderen Lieferanten infiziert wurde. Dies hatte aber bestimmte Grenzen insofern, als dies nicht der Fall war, wenn Milchen angeliefert wurden, die den Keimgehalt von 100 000 pro ccm nicht überschritten. Wie sich eine Änderung des Probenahmesystems diesbezüglich auswirken würde, konnte nicht ohne weiteres aus den Resultaten der vorliegenden Arbeit ersehen werden. Die Befunde geben aber immerhin einen Anhaltspunkt in der Richtung, daß durch die Probenahme aus dem Wägebassin weder dem Lieferanten noch der Molkerei ein Vorteil entsteht. Auf der anderen Seite ist diese Art der Probenahme für die Gesamtmilchanlieferung eines Lieferanten viel charakteristischer als die Probenahme aus einer einzelnen Kanne. Da aber in der Praxis keine andere Möglichkeit besteht, eine gute Durchschnittsprobe zu nehmen, ist die Probenahme aus dem Wägebassin als die augenblicklich zuverlässigste beizubehalten.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Claussen, M., Über den Einfluß des Natriumchlorids auf einige in der Milchwirtschaft wichtige Mikroorganismen mit besonderer Berücksichtigung der Milchsäurebakterien. (Diss. Univ. Kiel. 1935.)

Die Versuche des Verf.s beschäftigen sich mit dem Einfluß des Kochsalzes auf die Säuerung und den Eiweißabbau der Milchsäurebakterien und acidoproteolytischen Mikrokokken. Als Maßstab für die Stärke des Eiweißabbaus diente die Menge des gebildeten Aminosäurestickstoffs. An Milchsäurebakterien kamen folgende Arten zur näheren Untersuchung: Strept. lactis, Strept. cremoris, Strept. thermophilus, Streptobact. casei, Thermobact. lactis und Thermobact. helveticum.

Ergebnisse: Von allen Milchsäurebakterien ist der Strept. lactis am meisten salzresistent. Mengen bis zu 6% verhindern eine beträchtliche Säuerung noch lange nicht, während die Säurebildung von Strept. cremoris schon bei 5% NaCl gehemmt wird. Auch ist bei diesem keine Anregung der Säurebildung bei niedrigem Salzgehalt von 1—2% zu beobachten. Strept. thermophilus nimmt diesbezüglich ungefähr eine Mittelstellung ein. Die Streptobakterien verhalten sich ähnlich wie Strept. lactis; im übrigen ist aber die maximale Säuremenge bei den Streptobakterien wesentlich größer. Der Eiweißabbau scheint durch das Kochsalz stärker gehemmt zu werden als die Säurebildung. Was die

Thermobakterien anlangt, so unterscheiden sie sich in ihrem Verhalten gegenüber dem Kochsalz ganz wesentlich von den bisher beschriebenen Arten. Ihr Säuerungsvermögen ist zwar unter gewöhnlichen Bedingungen bedeutend stärker, aber es hört bereits bei einer Salzkonzentration von 5% auf. Selbst Mengen von nur 1% verursachen schon einen außerordentlichen Rückgang der Säurebildung! Auch hier wird der Eiweißabbau stärker beeinflußt als die Säurebildung. Eine besondere Ausnahmestellung nehmen die säureproteolytischen Mikrokokken ein. Sie konnten in mit 6—8% Kochsalz versetzter Rohmilch zur Anreicherung gebracht werden. Auch auf Chinablaumilchzuckeragar mit 7—8% NaCl-Zusatz kamen sie nach direktem Beimpfen mit einer Käseaufschwemmung gut zur Entwicklung; durch den hohen Kochsalzzusatz wurden die übrigen Bakterien, insbesondere die Milchsäurebakterien, am Auswachsen verhindert. Einzelne Stämme der acidoproteolytischen Kokken bildeten bis zu einem NaCl-Gehalt von 10% Säure und bauten Eiweiß ab. Das Maximum liegt aber bemerkenswerterweise viel tiefer, nämlich bei einem Kochsalzgehalt von 1—2%. Eine Anregung des Eiweißabbaus war aber noch bei einem NaCl-Gehalt von 4—6% festzustellen. — Den Schluß der Arbeit bilden Ausführungen über die Bedeutung des Kochsalzes für die biologischen Vorgänge in der Butter und im Käse.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Davis, J. G., and Mattick, A. T. R., Mastitis in relation to cheesemaking. (Agric. Progr. Vol. 13. 1936. p. 126—133.)

Was das schlechte Säuern von Mastitismilch durch direkte Behinderung der Milchsäurebakterien im Wachstum betrifft, so ist dieser Fall verhältnismäßig selten, bei chronischer Mastitis ist sogar eher das Gegenteil der Fall. Dagegen ist man sich allgemein darüber einig, daß Milch mastitiskranker Kühe schlecht gerinnt oder mindestens ein weiches Gerinnsel gibt. Über abnorme Gärungen von Käse im Zusammenhang mit Mastitis während der frühen Reifungsstadien ist in der letzten Zeit nichts Neues berichtet worden, dagegen wohl von Übersäuerung wegen des höheren Feuchtigkeitsgehaltes und dem Auftreten offener Stellen mit nachfolgender Verfärbung wegen Schimmelwachstums. Eine solche Braunfärbung wurde im Jahre 1936 in England öfters bei Cheddar-Käse beobachtet. An Geschmacksfehlern ist über Koch- oder Karamelgeschmack berichtet worden (Ursache Strept. lactis-Typen im Zusammenhang mit Euterinfektion). Zur Fernhaltung mastitiskranker Milch von seinem Betriebe bleibt dem Praktiker nur die Kontrolle im Stall selbst. Am einfachsten ist die Bromkresolpurpurpapierprobe; die Anwendung eines schwarzen Seihtuches oder einer Vormelkschale kann den damit erhaltenen Befund gut ergänzen. Es darf aber nicht vergessen werden, daß auch sehr saure Reaktionen bei Mastitismilch vorkommen können und daß andererseits wiederum alkalische Reaktionen eine Mastitis dort vortäuschen können, wo tatsächlich nur altmelke Milch vorliegt. Mit Vorteil läßt sich auch Koestlers Labprobe anwenden. Es gibt aber kein Verfahren, das für sich allein angewendet, zuverlässig wäre. Da kulturelle Verfahren für den Praktiker untunlich sind, kommt für diesen nur der Ausschluß solcher Milch in Betracht, die bereits sichtbar verändert ist oder aber in den obengenannten Proben positiv ausfällt.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Plastridge, W. N., Anderson, E. O., Weirether, F. J., and Johnson, R. E., Infectious bovine mastitis. Report on a control program based on segregation of infected animals. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 19. 1936. p. 641—650.)

Der an 7 Herden ausgeführte Plan bestand hauptsächlich darin, die positiven Tiere abzutrennen, an das eine Ende des Stalles zu bringen und sie zuletzt zu melken, ferner sich allmählich von den infizierten Tieren überhaupt frei zu machen und diese durch gesunde Kalbinnen zu ersetzen. Sämtliche Proben wurden in Zeitabständen von 3 Monaten von allen 4 Vierteln aseptisch entnommen.

Folgende Untersuchungen wurden durchgeführt: Beurteilung der physischen Erscheinung, Reaktion der Milch gegenüber Bromthymolblau, Leukozytenprobe, mikroskopische Untersuchung von Milchausstrichen (nach Bebrütung der Proben bei 37° über Nacht), Isolierung und Identifizierung der gefundenen Streptokokken. Ein Leukozytengehalt von 500 000 oder mehr pro Kubikzentimeter und die Anwesenheit von Str. mastitidis wurden als Beweis für vorliegende infektiöse Mastitis betrachtet.

Ergebnisse: 1. Das jährliche Auftreten von infektiöser Streptokokkenmastitis konnte auf Grund des vorliegenden Planes um 50—100% eingedämmt werden. 2. Wenn es auch gelang, das Auftreten von Mastitis dadurch einzuschränken, daß die erkrankten Tiere von den übrigen abgesondert aufgestellt und erst am Ende gemolken wurden, so stellte sich doch die Notwendigkeit einer vollständigen Abtrennung heraus, wenn man jedes Wiederauftreten der Krankheit im Stall völlig verhindern wollte. 3. Es gelang, mastitisfreie Herden dadurch aufzustellen, daß man die gesunden Tiere behielt, die infizierten abgab und diese durch Kalbinnen ersetzte, die nach der 1. Geburt keiner Infektion ausgesetzt waren.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Yale, M. W., and Eglinton, R., The value of the colon test as a means of detecting unsanitary conditions on the farm. (Ann. Proc. of the Intern. Assoc. of Dairy and Milk Insp. 1935. Sonderdruck.

Für die Zwecke der quantitativen Bestimmung der Colibakterien erwies sich Leifsons Laktose-Desoxycholat-Agar besser geeignet als die Verimpfung der Proben in Brilliantgrün-Laktose-Galle-Bouillon. Ergebnisse: Die tägliche Schwankung in der Anzahl der Coli-Organismen von Milch einzelner Betriebe ist höchstwahrscheinlich auf die wechselnde Infektion der Molkereigeräte mit diesen Organismen zurückzuführen und nicht auf die wechselnden Mengen von Stallschmutz, die in die Milch gelangen. Es kommt insbesondere darauf an, wie groß die ursprüngliche Infektion der Geräte an jedem Tage ist; denn die allgemeinen Sauberkeitsbedingungen in einem Betriebe bleiben ja im großen ganzen immer dieselben. Ohne Zweifel muß versucht werden, alle Möglichkeiten der Infektion der Milch mit Coli-Organismen auszuschalten; immerhin ist aber der Wert der Coliprobe für frische Rohmilch nicht besonders groß, weil nicht ohne weiteres entschieden werden kann, bei welchem Stadium der Milchbehandlung die Infektion eintritt. Nur bei ganz sauber gewonnenen Milchen (Kindermilch) ist es angebracht, der Coliprobe einen praktischen Wert zuzuschreiben.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Konoplewa, E. P. und Rozanow, A. A., Das Studium der Aufbewahrungsfähigkeit der gesalzten Butter. (Die Milchindustrie UdSSR. Bd. 3. 1936. S. 27—30.) [Russisch.]

Die Aufbewahrungsfähigkeit der Butter hängt von ihrer Mikroflora sowie von der chemischen Zusammensetzung und von physikalischen Eigenschaften („Mikrostruktur") ab. Butter mit Aufbewahrungsfähigkeit der Klasse I enthält viel weniger Mikroorganismen als die der Klassen II und III. Der „bakteriologische Standard" für gesalzene (russische) Butter nach 7 tägiger Aufbewahrung beträgt etwa folgende Mikroorganismenmengen in 1 ccm Butter: die Gesamtzahl der Mikroorganismen nicht über 500 000, die der Milchsäurebakterien nicht über 20 000, die der Hefe nicht über 500 usw.

M. Gordienko (Berlin).

Davis, J. G., Slow starters in cheesemaking. (Agric. Progr. Vol. 12. 1935. p. 138—144.)

Das schlechte Ziehen von Säureweckern ist in der Käseindustrie Großbritanniens sehr weit verbreitet und wahrscheinlich der in Käsereien überhaupt am häufigsten auftretende Fehler. Abgesehen von der durch schlechtes Kernen verursachten Verzögerung in der Fabrikation selbst ist die weitere Folge sehr oft fehlerhafter Geschmack und auch schlechtes Gefüge. Die Ursachen hierfür können dreierlei Art sein, 1. der Zustand der den Säurewecker zusammensetzenden Milchstreptokokken, 2. das Vorhandensein hemmender Substanzen, chemischer oder biologischer Art, 3. die Unfähigkeit der Milchsäurestreptokokken zu wachsen, infolge „dysgenetischer" Eigenschaften der betreffenden Milch.

Zu 1: Diese Schwierigkeiten werden am besten dadurch überwunden, daß man für die tägliche Fortpflanzung eine nicht zu geringe Menge Impfmaterial entnimmt, damit die Wahrscheinlichkeit, lebenskräftige Zellen zu überimpfen, möglichst groß ist. In manchen Fällen können solche Säurewecker durch Kühlhalten und häufig wiederholtes Weiterimpfen wieder angeregt werden. Auch ein Wechsel des Nährmediums oder die Zufügung von Pflanzenextrakten (z. B. Tomatensaft) kann die Säuerungskraft wieder herstellen. Weiterhin ist zu beachten, daß die Säurewecker niemals — wie man sagt — „überreif" werden sollen. Das Überreifwerden hat die Auslese von zwar stark säurebildenden, aber nur langsam wachsenden Stämmen zur Folge. Zu 2: Die in Frage kommenden hemmenden Substanzen können höchstens künstlich zugefügte Antisepticas, wie z. B. Formalin sein; sie spielen heute kaum eine große Rolle. Etwas anderes ist der Antagonismus durch Vorhandensein anderer Bakterien. Als solche kommen z. B. gewisse Varianten von Strept. cremoris und Strept. mastitidis in Frage. Die von ihnen gebildeten hemmenden Substanzen halten eine Erhitzung auf 100° C während 30 Min. aus. Der Fehler läßt sich ausmerzen durch rechtzeitiges Kühlen der Milch, so daß die betreffenden Erreger an der Entwicklung gehindert werden. Zu 3: Frisch gemolkene Milch ist im Frühjahr bakterizider als zu anderen Zeiten; daß aber die bakterizide Kraft der Milch am schlechten Ziehen von Säureweckern schuld sei, wird nicht allgemein angenommen. Betreffs des Einflusses der Milch aus mastitiskranken Eutern können die verschiedenen Ansichten dahin zusammengefaßt werden, daß eine Milch von sog. milder Mastitis das Wachstum der Milchsäurebakterien stimuliert, während eine Milch von schweren Mastitisfällen so reich an toxischen Substanzen ist, daß eine Hemmung eintritt. Es stimmt freilich, daß toxische Substanzen in geringen Mengen ebenfalls eine stimulierende Wirkung ausüben können. Gewisse ungünstige Einflüsse hat auch der Sauerstoffzutritt zur Kultur, aber Beziehungen der Hemmungsvorgänge zur Peroxydbildung konnten nicht beobachtet werden. — Säurewecker für Käsereizwecke sollen jedenfalls nur aus einer Milch hergestellt werden, die über jeden Verdacht erhaben ist. Die Milch selbst ist vor Beimpfung mit der Kultur (3—5%) 1 Std. bei 87° C zu erhitzen. Kupfergefäße sind zu vermeiden. Der Säurewecker selbst soll in der Hauptsache aus Strept. cremoris und zum geringeren Teil aus Strept. paracitrovorus als Aromabildner bestehen. Gegen das Vorhandensein von Strept. lactis ist nichts einzuwenden. Die Kulturen sind nur von einem zuverlässigen Institut (am besten staatl. Laboratorium) zu beziehen, die Fortpflanzung soll unter täglicher Kontrolle stattfinden. Der einfachste Weg hierzu ist eine Burrische Ausstrichkultur auf gewöhnlichem Standardschrägagar (1—2 Tage bei 30° C). Verunreinigungen mit

Fremdorganismen konnen sehr leicht durch ihre Kolonieform von den echten Milchsaure- und Aromastreptokokken unterschieden werden.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Sach, F., Zur Kenntnis der in der Milch, im Darm der Kühe und im Darm und in anderen Organen der Menschen häufig vorkommenden Streptokokkenarten (z. T. „Enterokokken" der medizinischen Bakteriologie). Inaug.-Diss. Kiel. 1936. 52 S.

In einer eingehenden Arbeit wird dazu beigetragen, Klarheit in die Nomenklatur der Streptokokken zu bringen. Verf. stellte fest, daß zu der von den Medizinern als „Enterokokken" bezeichneten Gruppe folgende Streptokokkenarten gehören: Str. faecium Orla-Jensen, Str. thermophilus Orla-Jensen, Str. glycerinaceus Orla-Jensen, Str. liquefaciens Orla-Jensen, daneben atypische Milchsäurestreptokokken und nicht säuernde Arten. Die vielen Widersprüche in der medizinischen Literatur betreffs der Milchsäurestreptokokken und Enterokokken lassen sich durch diese Nichtunterscheidung erklären. Zur Charakterisierung der Streptokokken erwiesen sich als besonders brauchbar: Lackmusmilch, Zuckerreihe, Wachstumsoptimum, Hitzeresistenz und Gelatineverflüssigung.

Meewes (Kiel).

Koch, R., Über die Begutachtung des Lebenszustandes von Bierhefe. (Tageszeitg. f. Brauerei. Bd. 34. 1936. S. 741.)

Die Methoden zur Ermittlung des physiologischen oder Lebenszustandes von Hefen sind nicht ausreichend und geben kein klares Bild. Der Brauer beurteilt den Lebenszustand seiner Hefe nach dem Gärbild auf dem Bottich. Bei der Untersuchung von Trockenhefen fand man in normalen Brauereibetriebshefen wesentlich weniger entwicklungsfähige Zellen als man erwartet hatte. Auch Wannenhefen enthielten nur etwa 50—70% entwicklungsfähige Zellen, d. h. Zellen, die in Würzegelatine oder flüssiger Würze in Tröpfchenkultur zur Entwicklung gebracht werden konnten. Mit Methylenblau färbten sich aber von solchen Hefen nur etwa 5—10%. 24 Stunden nach dem Anstellen im Gärbottich waren sämtliche Zellen erholt und entwicklungsfähig. Während der Gärung im Gärkeller und im Lagerkeller sinkt die Zahl entwicklungsfähiger Zellen immer weiter, schließlich bis auf ein Minimum, ab. Auch hier versagt die Methylenblaumethode. Durch Behandlung mit Zuckerlösung kann man diese Zellen wieder zum Sprossen bringen.

Heuß (Berlin).

Schnegg, H. und Weigand, K., Die Bedeutung der Borsäure als keimtötendes Mittel für Brauerei-Organismen. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 59. 1936. S. 109—116.)

Borwasserproben des Handels sind stets infiziert, man fand darin rote Torula-Arten, „schwarze" Hefen und teilweise auch Dematium. Die Feststellung dieser Organismen, die größtenteils auch in der Brauerei als Fremdorganismen auftreten, gab Veranlassung, auch andere Brauereiorganismen auf ihr Verhalten gegenüber 1- und 4proz. (gesättigter) Borsäurelösung zu prüfen. Man wählte dazu folgende Organismen aus: a) echte Hefen (Saccharomyzeten): untergärige Kulturhefe R., Sacch. ellipsoideus; unechte Hefen (Pseudosaccharomyzeten): Mykoderma, Torula blaßrot und tiefrot aus Borwässern isoliert, Torula 12 (weiß), Torula 42 und 51 (rot), Monilia candida und Pseudomonilia, schwarze Hefe aus Borwasser isoliert; c) Schimmelpilze: Penicillium, Mucor racemosus, Oidium

lactis und Dematium pullulans; d) Bakterien: Essigbakterien, Termobakterien, Milchsäurebakterien und Biersarzina (Pediococcus).

Von den echten Hefen zeigte Kulturhefe eine wesentlich geringere Widerstandsfähigkeit als wilde Hefe. Von den unechten Hefen war Mycoderma besonders empfindlich. Die größte Widerstandsfähigkeit zeigten die aus käuflichen Borwässern isolierten roten Torulaarten und schwarzen Hefen, während weiße und andere Torulastämme wesentlich empfindlicher waren. Auch Monilia und Pseudomonilia, sonst gegen viele keimtötende Mittel verhältnismäßig widerstandsfähig, waren gegen Borsäure ziemlich empfindlich. Von den Schimmelpilzen war Penicillium unerwartet empfindlich, widerstandsfähiger waren Mucor und Oidium, am unempfindlichsten zeigte sich Dematium. Essigsäurebakterien und ein langzelliger Milchsäurebakterienstamm, ebenso Biersarzinen erwiesen sich nicht sehr widerstandsfähig, wesentlich unempfindlicher waren Termobakterien und ein kurzzelliger Milchsäurebakterienstamm.

Da Borsäure selbst in gesättigter 4proz. Lösung gegenüber den meisten Brauereischädlingen nicht wirksam ist, kann sie nicht als geeignetes Brauereidesinfektionsmittel angesprochen werden. Heuß (Berlin).

Chrzaszy, T. und Schillak, R., Die Umbildung der Milchsäure durch verschiedene Schimmelpilze. (Biochem. Ztschr. Bd. 288. 1936. S. 359—368.)

Vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Schimmelpilzen, besonders solchen, die in Molkereien und Käsereien von Bedeutung sind, ergaben, daß alle untersuchten Arten Milchsäure als Kalziumlaktat abzubauen vermögen unter Bildung von flüchtigen Säuren und anderen Zwischenprodukten. Hinsichtlich der aus Laktat entstehenden Umwandlungs- und Endprodukte wurden die untersuchten Pilze in folgende drei Gruppen eingeteilt: 1. Laktat wird schnell bis zu Kohlensäure abgebaut über Ameisensäure, Azetaldehyd, Propionsäure und Essigsäure. Hierher gehören verschiedene Penicillium-Arten, die in der Milchindustrie Verwendung finden, sowie Dematium pullulans. 2. Der Abbau vollzieht sich langsamer über viele Zwischenprodukte, wie die eben genannten, sowie Oxalsäure, Zitronensäure, Äthylalkohol und Azeton. Zu dieser Gruppe gehören Monilia fructigena und Botrytis cinerea. Zwischen diese und die erste Gruppe sind gemäß ihres Verhaltens die Mucor-Arten zu stellen. 3. Es entsteht vornehmlich Oxalsäure, besonders reichlich bei Gegenwart von Kalziumkarbonat, während flüchtige Säuren nur in geringer Menge gebildet werden. Diese Umbildung des Milchsäuremoleküls wird durch Aspergillus-Arten hervorgerufen. Bortels (Berlin-Dahlem).

Duggar, J. F., Relative promptness of nodule formation among vetches, vetchlings, winter peas, clovers, melilots and medics. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 27. 1935. p. 542—545.)

Verf. hat die Knöllchenbildung bei einer Anzahl von geimpften Leguminosen unter Freilandbedingungen untersucht. Zwei Aussaaten am 1. 10. und am 1. 11. wurden 6 Jahre hindurch vorgenommen und mehrfach Zählungen durchgeführt. Die Untersuchungen erstreckten sich auf folgende Arten: Vicia dasycarpa, pannonica, villosa, monantha, sativa, angustifolia, atropurpurea, ervilia, faba, Pisum sativum, Lathyrus tingitanus, odora-

tus, sativus, Ervum lens, Trifolium incarnatum, pratense, hybridum, repens, repens latum, subterraneum, Melilotus alba, indica, arabica, hispida, sativa. Für jede Art ist die durchschnittliche Anzahl von Tagen angegeben, die von der Aussaat bis zur allgemeinen Knöllchenbildung verstrich. Unter letzterer ist das Auftreten von einem oder mehreren Knöllchen an 85% oder mehr der untersuchten Pflanzen verstanden. Es wurden erhebliche Unterschiede sowohl zwischen den verschiedenen Gattungen als auch zwischen den Arten einer Gattung festgestellt. Braun (Berlin-Dahlem).

Duggar, J. F., The nodulation and other adaptations of certain summer legumes. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 27. 1935. p. 32—37.)

Anbau einer Anzahl von Leguminosen-Spezies auf saurem sandigen Boden ergab sehr unterschiedliche Fähigkeit zur Knöllchenbildung. Ganz unterblieb sie bei Phaseolus lunatus, vulgaris und acutifolius, Dolicholus minimus, Dalea alopecuroides, Sesbania macrocarpa und vesicania, Daubentonia spec., Acuan spec. und Robinia pseudacacia. Sehr reichlich war sie bei Vigna sinensis, Soja max, Lespedeza striata, Crotalaria striata und sericea, Strophostyles helvola, Phaseolus radiatus, aconitifolius, calcaratus aureus und mungo, Desmodium purpureum, Dolichos lablab, Arachis hypogaea (aber nur die „runner"-, nicht die „spanish"-Varietät), Chamaechrista nictitans. Verf. glaubt auf Grund seiner Befunde bei Phaseolus, Lespedeza und Arachis im Vergleich mit den Feststellungen anderer Autoren, daß die Zahl von Bakterien, die zur Symbiose mit Leguminosen befähigt sind, bedeutend größer ist als bisher angenommen wird. Braun (Berlin-Dahlem).

Duggar, J. F., The effects of inoculation and fertilization of spanish peanuts on root nodule numbers. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 27. 1935. p. 128—133.)

An spontan auftretenden Individuen von Arachis hypogaea (Spanish peanut) hat Verf. nur in verschwindendem Maße Wurzelknöllchen beobachten können. Künstliche Infektion führte zu einer starken Zunahme der Knöllchen und zu einer Ertragsteigerung um 30—40%. Düngergaben der verschiedensten Form blieben ohne Einfluß, wenn sie nicht in unmittelbare Berührung mit den Samen gebracht wurden.

Braun (Berlin-Dahlem.)

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Joshi, N. V., Soil Microbiology. (Society of Biological Chemists, India. 1935. p. 80—86.)

Die von indischen Forschern im Jahre 1935 auf dem Gebiete der Bodenmikrobiologie durchgeführten Untersuchungen (Photokatalysatoren im Erdboden, Umwandlung von Stickstoffverbindungen, Schwefeloxydation, anaerobe Zersetzung von Pflanzenmaterial) werden vom Verf. kritisch besprochen. Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

De, P. K., and Sarkar, S. N., Transformation of nitrate in water-logged soils. (Soil Science. Vol. 39. 1936. p. 143—155.)

Zur Prüfung der Frage, inwieweit das bekannte Verschwinden von

Nitrat-N in Reisböden denitrifizierenden Vorgängen zuzuschreiben ist, wurden Proben (50 g) eines sauren Lateritbodens von p_H 5,1 sowie eines alkalischen, kalkreichen, sandigen, alluvialen Lehmes von p_H 8,3 mit 100 ccm nitrathaltigen dest. Wassers versetzt. In allen Proben war der Nitrat-N nach etwa 1 Monat vollständig verschwunden. Im Laterit verschwand er anfänglich langsamer als im Lehm. Auch die Menge des Gesamt-N verringerte sich, aber nicht in dem Maße wie der Nitrat-N. Das Verschwinden des Nitrats beruhte nicht auf Reduktion zu Ammoniak, auch sollen Denitrifikationsvorgänge keine größere Rolle gespielt haben. Vielmehr wird aus der vermehrten CO_2-Produktion und der erhöhten Zahl von Bakterien und Aktinomyceten in den überschwemmten Bodenproben geschlossen, daß der Nitrat-N von den Bodenmikroben assimiliert wurde. Überhaupt soll die Denitrifikation in überschwemmten Böden dann von untergeordneter Bedeutung sein, wenn das Verhältnis von leicht assimilierbarem C zum Nitrat-N größer als etwa 30—50 : 1 ist, wie im vorliegenden Fall bei den untersuchten Bodenproben und wie auch einige Versuche mit zusätzlichen organischen Stoffen gezeigt haben sollen. Ist es dagegen kleiner, soll die Denitrifikation überwiegen. Nach Ansicht des Ref. unterstützen die von den Verff. durchgeführten Versuche jedoch nicht deren Auffassung, sondern sprechen sehr für Denitrifikation. Zum Schluß wird noch gezeigt, daß die Auswaschung von Nitrat-N in mit Reis bewachsenem Boden geringer ist als in unbewachsenem. Engel (Münster i. W.).

Gainey, P. L., Total nitrogen as a factor influencing nitrate accumulation in soils. (Soil Science. Vol. 39. 1936. p. 157—163.)

Es wurde der Gesamt-N in 250 Bodenproben bestimmt und mit der Nitrifikationsintensität darin verglichen. Es handelte sich um 125 Probenpaare, von denen immer eine von einer Bodenstelle geringerer Fruchtbarkeit stammte, die andere aus der fruchtbareren Umgebung derselben. Die wenig ertragreichen Bodenstellen besaßen im Durchschnitt einen geringeren N-Gehalt und auch die Tätigkeit der Nitrifikationsbakterien war darin geringer. Wurde der N-Gehalt des Bodens nach 7 Größenklassen geordnet und der mittlere N-Gehalt jeder Klasse mit den zugehörigen mittleren Werten für die Nitrifikation verglichen, ergab sich für die unfruchtbaren Bodenstellen ein Korrelationskoeffizient von 0.990 $\pm$ 0,012, für die fruchtbaren ein solcher von 0,988 $\pm$ 0,006, d. h. es war eine stark positive Beziehung vorhanden. Wurde dagegen die Korrelation für jede einzelne Probe berechnet, ergab sich ein Koeffizient von nur 0,389 $\pm$ 0,052 bzw. 0,368 $\pm$ 0,052, d. h. es bestand kaum eine sichere Beziehung. Nach Ansicht des Ref. ist eine bessere Korrelation auch gar nicht zu erwarten, da die Tätigkeit der Nitrifikationsbakterien in den Böden nicht nur von deren N-Gehalt abhängig ist, sondern vor allem auch von deren Luftkapazität, deren Aziditätsgrad und Pufferung. Engel (Münster i. W.).

Oesterle, P., Über die Abhängigkeit des Sterilisationsergebnisses von den Eigenschaften des Testmaterials. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 117. 1936. S. 16—31.)

Bei der Prüfung von Würzburger Gartenerde konnten keine jahreszeitlichen Schwankungen in der Widerstandsfähigkeit ein und derselben Bodenprobe von Dezember 1934 bis September 1935 festgestellt werden.

Wurden Mesentericus-Sporen über steriler Erde in Bouillon gezüchtet oder nach dem Trocknen mit steriler Erde vermischt, so zeigten sie eine geringe Resistenzerhöhung für gesättigten Wasserdampf. Die Resistenz der nativen Sporen wurde jedoch bei weitem nicht erreicht.

Hochvakuum war ohne Einfluß auf die Dampfresistenz der Sporenerde. Auch Hochvakuum von 0,01 mm/Hg führte nicht zur Schädigung genuiner Erdsporen.

Bei der Sterilitätsprüfung ist die makroskopische Beurteilung der Nachkultur nicht ausreichend; denn manche Sporenbildner (z. B. Bac. sphaericus) erzeugen nur ganz minimale Trübungen. Nur das Sediment gibt häufig bei mikroskopischer Untersuchung einwandfreie Ergebnisse.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kalnins, A., Microbiological analysis of soil. (From the Proceeding of the 10. Congress of Agriculture Science, Riga, Latvia 1936.) [Poln. m. engl. Zusfassg.]

Die vom Verf. ausgearbeitete biologische Methode zur qualitativen Bestimmung des im Boden verfügbaren Phosphors und Kalis besteht darin, daß 2,5 g des zu untersuchenden lufttrockenen Bodens mit 25 ccm einer bestimmten Nährlösung, die im Liter 2,5 Milliarden Hefezellen enthält, zusammengebracht wird. Von den notwendigen 4 Versuchsserien enthält die 1. einen Kalizusatz, die 2. einen Phosphatzusatz, die 3. einen Phosphat- und Kalizusatz, die 4. keinen Zusatz (Kontrollkulturen). Die Versuchsgefäße (35 ccm fassende Freudenreich-Flaschen) werden vor und nach dem Versuch (Kulturdauer 3 Tage bei 27° C) gewogen. Der Gewichtsverlust, der durch Entweichen der Kohlensäure entsteht, gibt Aufschluß über den Gehalt an Phosphor und Kali im Boden.

Zur quantitativen Bestimmung des im Boden verfügbaren Phosphors wird die Hefemenge der Nährlösung um das 5 fache (500 000 Zellen in 1 ccm) verringert. Die 3 Kulturserien bestehen 1. aus Kulturen ohne Zusatz (Kontrolle), 2. aus Kulturen mit 0,075 mg P_2O_5 (als Na_3PO_4), 3. aus Kulturen mit 7,5 mg P_2O_5. Im übrigen wird in derselben Weise verfahren wie bei der qualitativen Bestimmung. Die Menge des Phosphors wird nach einer Formel berechnet. Die vom Verf. erzielten Ergebnisse sollen eine gute Übereinstimmung mit den nach der Mitscherlichschen Methode erhaltenen Werten ergeben. Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Nick, J., Über Bakteriophagenbefunde im Abwasser und Vorfluter. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 397—403.)

Im Lahnwasser fanden sich bei trockenem Wetter in der Hauptsache gegen Bact. coli, dysenteriae Y und Flexner gerichtete Bakteriophagen. Nach Niederschlägen wurde, neben stärkerer, eine vielseitigere Phagenwirkung beobachtet. Daraus wird geschlossen, daß unter günstigen Umständen Bakteriophagen im Vorfluter Bakterien angreifen und an der Selbstreinigung des Wassers beteiligt sind.

Durch mechanische und biologische Klärung wurde der Bakteriophagengehalt und die Stärke des lytischen Prinzips eines Abwassers nicht beeinflußt. Kupfersulfat schädigte ebenfalls nicht; dagegen zerstörte überschüssiges Chlor in einer Menge von 0,6—0,7 mg die Bakteriophagenwirkung. Die Coliphagen wurden im übrigen durch Chlor weniger stark beeinflußt als die Colibakterien. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Körnlein, M., Die Flora des Milchzuckerabbaus bei der Reinigung des Molkereiabwassers durch das Belebtschlammverfahren. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 359—390.)

Bei der Reinigung von Molkereiabwässern durch das Belebtschlammverfahren setzt sich die Flora des Belebtschlamms nicht aus den für die Milch und ihre Produkte charakteristischen Arten zusammen (nur Oospora lactis siedelt sich dauernd an), sondern besteht aus Vertretern der Coli-Aerogenes- und der Fluorescens-Gruppe, sowie Flavobakterien und Fadenbakterien (Sphaerotilus natans), von denen die letztgenannten vornehmlich für die Aufrechterhaltung des mechanischen Gerüstes bedeutsam sind. Kokken und Sporenbildner fehlen oder können sich, wie die Milchsäurebakterien, nicht halten.

Diese Lebensgemeinschaft greift mit ihrem Stoffwechsel so ineinander, daß keine schädliche Säurebildung stattfindet, indem nach dem ersten Angriff der Coli-Aerogenes-Gruppe auf die Laktose diese Gruppe selbst die organischen Säuren wieder abbaut, ebenso Oospora, und zudem Flavobakterien und die Fluorescens-Gruppe durch Ammoniakbildung im Verlaufe des Caseinabbaus die Säuren neutralisiert.

Für Sphaerotilus wird ein Kulturverfahren mitgeteilt; die Schwärmer tragen ein polares Geißelbüschel. Rippel (Göttingen).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Chaudhuri, H., Diseases of Citrus in Punjab. (Indian Journ. of Agric. Sc. Vol. 6, 1. 1936. p. 72—109.)

Im Punjab trat an Citrus sehr häufig eine Spitzen- oder Zweigdürre auf, die durch Colletotrichum gloeosporioides Penz. hervorgerufen wurde. Besonders schwere Symptome zeigten Citrus poonensis (Santara) und C. sinensis (Malta). Neben der Vernichtung der Zweige begannen bereits die unreifen Früchte herunterzufallen, die kranken Äste schienen silbergrau und zeigten ähnlich wie die befallenen Blätter kleine, schwarze Flecken. Es gelang, durch künstliche Kultivierungsversuche verschiedene Stämme von Colletotrichum gloeosporioides zu isolieren, die sich durch Sporengröße, Wachstumsart, Virulenz usw. unterschieden. Die Infektionsmöglichkeit wurde durch günstige Bodenverhältnisse, klimatische Einflüsse, besonders Feuchtigkeit und Hagel oder durch vorherige Infektion mit anderen Pilzen erhöht. Außerdem vermögen wahrscheinlich die Sporen Produkte abzugeben, die das Eindringen des Pilzes in die Wirtspflanze erleichtern. Durch Infektions- und Pfropfversuche ließ sich die Widerstandsfähigkeit einzelner Citrusarten feststellen.

Untersuchungen an Citrus sinensis Grove, der an Chlorose erkrankt war, ergaben, daß die chlorotischen Zellen saurer reagierten als die umliegenden grünen Gewebe. Die Chloroplasten wurden hellgrün und degenerierten, der Zellinhalt verschwand, und die Zellen gingen zugrunde. Injektionen oder Spritzungen mit einer 0,0001 proz. Eisensulfatlösung werden als Bekämpfungsmittel empfohlen.

Abgesehen von den allgemein bekannten Erregern von Blattfleckenkrankheiten an Citrus wurden Acrothecium lunatum, Capnodium citri, Cladosporium herbarum var. citricola, Alternaria citri, Chaetomium sp. und Pleospora her-

b a r u m gefunden. Eine Übersicht wirksamer Bekämpfungsmittel beschließt die umfangreiche mit gutem Bildmaterial ausgestattete Arbeit.

B ä r n e r (Berlin-Dahlem).

Harris, M. R., The relationship of Cephalosporium acremonium to the black-bundle disease of corn. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 965—980. 2 figs.)

Die durch eine Schwarzfärbung der Gefäße gekennzeichnete Krankheit des Maises wurde bisher auf Befall mit Cephalosporium acremonium zurückgeführt. Verf. konnte feststellen, daß die Ursache die Ablagerung von gummiähnlichen Substanzen in den Zellen und Gefäßen ist. Vereinzelt wurde der Pilz in kranken Pflanzen gefunden, der die Ablagerungen als Nährstoff ausnutzte. In einigen Fällen schien die Ablagerung erblich, in anderen Fällen durch äußere Faktoren bedingt zu sein. Infektionen mit Cephalosporium acremonium ergaben keinen Befall. Durch Aussäen von infizierten Körnern konnte die Krankheit ebenfalls nicht hervorgerufen werden.

W i n k e l m a n n (Berlin-Dahlem).

Ullstrup, A. J., Leaf blight of China aster caused by Rhizoctonia solani. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 981—990. 3 figs.)

Verf. beschreibt eine durch Rhizoctonia solani hervorgerufene Krankheit von Callistephus chinensis Ners. 2 Stämme: A 1 von kranken Asternblättern isoliert und S B 3 von der Zuckerrübe durchdrangen die Kutikula, während 2 weitere Stämme S B 1 und S B 2 nur durch die Stomata in das Gewebe gelangten. Ein weiterer Stamm P 1 infizierte nur dann, wenn Wunden an der Pflanze vorhanden waren.

W i n k e l m a n n (Berlin-Dahlem).

Berwith, C. E., Apple powdery mildew. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 1071—1073.)

Ver. stellte fest, daß Konidien, die 1, 2 und 14 Tage trocken gehalten wurden, nicht geschädigt waren. Frisch gesammelte Konidien keimten am besten bei 19—22° C. Keimung erfolgte nicht bei einer relativen Luftfeuchtigkeit unter 90%. Künstliche Infektionen gelangen an abgeschnittenen Blättern ebenfalls nur bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von über 90%. Bei Temperaturen von 13—25° C und etwa 100% relativer Luftfeuchtigkeit wurde die Infektion nach 45—48 Stunden sichtbar und Konidienträger wurden in 5 Tagen gebildet. Die Resistenz der Blätter nimmt mit dem Alter zu. Da Myzel in den Knospen während des Winters gefunden wurde, hält Verf. für wahrscheinlich, daß der Pilz als Myzel überwintert.

W i n k e l m a n n (Berlin-Dahlem).

Gregory, P. H., The control of the white mould disease of Narcissus. (Journ. Min. Agric. Vol. 43. 1936. p. 865—869, 2 figs.)

In den Gebieten, in denen im Frühjahr feucht-warme Witterung herrscht, tritt fast jedes Jahr die durch Ramularia vallisumbrosae Cav. verursachte Weißfäule der Narzissen in starkem Maße auf. Verf. beschreibt eingehend die Krankheitssymptome. Neben sehr anfälligen Sorten wie Golden Spur, Sunrise, Ornatus maximus und Double White gibt es auch resistente Sorten wie King Alfred, Emperor, Maximus superbus, Henry Irving, Bath's Flame und Polyanthus. Zur Bekämpfung können Kulturmaßnahmen wesentlich beitragen. Fruchtwechsel sollte nach Möglichkeit betrieben werden. Nach den bisherigen Erfahrungen bleibt der Erreger nicht länger als 1 Jahr im Boden lebensfähig. Ist es notwendig, daß Narzissen nach Narzissen ange-

baut werden, so wähle man resistente Sorten. In trockeneren Gebieten kann man durch Vernichten der kranken Blätter einer Verbreitung der Krankheit entgegenwirken. Spritzversuche mit Kupferkalkbrühe hatten Erfolg. Da die Narzissenblätter schlecht benetzen, ist der Zusatz eines Netzmittels erforderlich. Die erste Spritzung wird vorgenommen, wenn die Schosse 7—15 cm hoch sind. Im allgemeinen sind noch 1—2 Spritzungen im Abstande von 1 Monat erforderlich. In den Gebieten, in denen die Wasserbeschaffung Schwierigkeiten macht, können auch Kupferstäubemittel angewendet werden. Ihre Wirkung steht jedoch der der Kupferkalkbrühe nach; außerdem ist eine größere Zahl von Anwendungen erforderlich.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Uppal, B. N., and Kamat, M. N., Gummosis of Citrus in Bombay. (Ind. Journ. of Agric. Sc. Vol. 6. 1936. p. 803—822.)

Von Mosambibäumen (Citrus sinensis Osbeck), die an Gummose erkrankt waren, gelang es, eine Phytophthora zu isolieren. Vergleichsuntersuchungen ließen erkennen, daß es sich weder um Phytophthora citrophthora noch um Ph. parasitica handelte, die als Erreger von Citrus-Gummosen bekannt sind, sondern um einen besonderen Stamm von Ph. palmivora Butler. Bei Mosambibäumen wurden nicht nur die Stämme, sondern auch die Früchte infiziert, wobei feuchtes Wetter die Ausbreitung der Krankheit wesentlich begünstigte.

Durch Einbringen der Pilzkulturen in die verletzte Rinde des Stammes ließ sich die Krankheit übertragen. Citrus decumana und C. sinensis erwiesen sich hierbei als stark anfällig, während „Kagdi" (gärtnerische Varietät von C. aurantifolia) und „Jamburi" (gärtnerische Varietät von C. limonia) beinahe immun waren. Die Mandarine, C. nobilis Lour. var. deliciosa Swingle, zeigte sich schwach resistent. Durch Pfropfungen von süßen Citrusarten auf saure, z. B. auf Jamburi wurde die Ausbreitung der Gummose verhindert. Zur Bekämpfung der Krankheit wird 25—30 proz. Kreosotöl empfohlen. Bärner (Berlin-Dahlem).

Walter, J. M., Factors affecting the development of corn smut, Ustilago Zeae (Beckm.) Unger. (Univ. Minnesota Agric. Exp. Stat. Techn. Bull. 111. 1935. 67 p., 4 figs.)

Verf. schätzt den Verlust durch den Beulenbrand des Maises in den Vereinigten Staaten auf 2% oder 55 Millionen Bushels. Nach einer eingehenden Besprechung, vor allem der amerikanischen Literatur, beschreibt er seine eigenen Versuche. Verstümmelung der Pflanzen durch Abschneiden oder Entspitzen vermehrte den Befall erheblich und z. Zt. des stärksten Wachstums mehr als bei der Reife. Die Anreicherung von Sporenmaterial an den Teilen der Pflanzen, die Regenwasser festhalten, führte nicht zu stärkerem Befall. Injektion von sterilem Wasser in die Blattspiralen und das Reiben der Blattspiralen zwischen den Handflächen während oder unmittelbar nach einem Regen erhöhten den Befall. Die Sorte Rustler zeigte auf feuchtem Boden weniger Brand als auf trockenem. Bei der Sorte Northwestern Dent war es jedoch nicht so. Im allgemeinen war der Brand gefährlicher bei späterer als bei früherer Aussaat. Durch die Düngung wurde die Stärke des Befalls nicht beeinflußt. Kulturmaßnahmen beeinflußten den Stand der Pflanzen. Dieser war aber im allgemeinen ohne Einfluß auf den Brandbefall. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

v. Olgyay, M., Untersuchungen über das Keimen und die Infektionsverhältnisse der Steinbrandsporen (Tilletia foetens und tritici). (Botanikai Közlemények. Bd. 32. 1935. S. 52—74, 5 Abb.) [Ung. m. dtsch. Zusfassg.]

Die Keimfähigkeit der Sporen wird nicht allein durch ihr Alter bestimmt, sondern auch die Herkunft und die Art der Aufbewahrung spielt eine Rolle. Das Zustandekommen und die Stärke der Infektion ist nicht durch Triebkraft und Keimungsgeschwindigkeit der Keimpflanze bedingt, sondern in erster Linie durch die Faktoren, die die Entwicklung von infektionsfähigen Sporidien ermöglichen. Verf. ist der Ansicht, daß die Infektion nicht durch die Koleoptile erfolgt, sondern dort, wo die Wurzeln hervorbrechen. Die stärkste Infektion tritt bei 10—18° C, schwache bei 4—10 und 18—22° C auf. Unter 4 und über 22° C kommt es zu keiner Infektion. Eine Bodenfeuchtigkeit von über 40% und starke Trockenheit vermindern den Befall. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Stempell, W., Romberg, G. v. und **Ulpis, R.**, Über erfolgreiche Behandlung von Pflanzentumoren mit Organismenstrahlung aussendenden Mückenlarven. (Biolog. Zentralbl. Bd. 56. 1936. S. 114—116.)

Der Inhalt der Arbeit, für die 3 Autoren verantwortlich zeichnen, steht in selten krassem Widerspruch zu der verheißungsvollen Überschrift. Zunächst wird auf bereits vorliegensollende Erfolge der Behandlung von infektiösen Pflanzentumoren mittels Strahlungen unter Berufung auf die lange widerlegten Versuche Lakhovskys (vgl. diese Zeitschrift. Bd. 88. 1933. S. 313—319) hingewiesen, und dann werden folgende eigene Versuche beschrieben: 80 junge Pflanzen von Pelargonium zonale wurden über den drei untersten Blättern abgeschnitten und 60 davon seitlich an der Schnittfläche der Stümpfe mit Pseud. tumefaciens beimpft. 4 Tage später wurden über die Stümpfe eines Teiles der Pflanzen zylindrische, beiderseits offene Celluloidhüllen gestülpt und in diese Hüllen eine größere Zahl erwachsener, lebender Mückenlarven von Corethra plumicornis, ohne Zwischenmembran zwischen Stumpf und Larven, eingefüllt, die verschieden lange (bis 20 Std.) in der Hülle und damit auf dem Stumpf belassen wurden. Ergebnis: Durch „Behandlung“ mit diesen lebenden Mückenlarven ließ sich die Entwicklung der Pelargoniumtumoren stark verzögern und in 25% der Fälle ganz verhindern. Stapp.

Berichtigung.

In der Arbeit von C. R. Baier, „Über die Bedeutung von Spurenelementen und Kolloiden bei der Deckenbildung von Azotobakter und über seinen Nachweis im Wasser“ in Bd. 95 dieser Zeitschrift ist auf Seite 101, Zeile 3 von oben zu ergänzen: NaCl 0,5, $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$ 0,001.

Abgeschlossen am 12. März 1937.

12-6-37

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 96. No. 9|12.

Ausgegeben am 20. Mai 1937.

Beiträge zur Biologie und Bekämpfung des Apfelschorfes (Fusicladium dendriticum [Wallr.] Fckl.).

III. Mitteilung.

[Aus dem Botanischen Laboratorium der Prüfstelle für Pflanzenschutzmittel und Pflanzenschutzgeräte und der Zweigstelle Stade der Biologischen Reichsanstalt.]

Von **A. Winkelmann, W. Holz** und **H. Jaenichen.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

Da Freilandbeobachtungen sich nicht auf Grund von einjährigen Feststellungen abschließend beurteilen lassen, wurde auch im Jahre 1936 die Entwicklung von Fusicladium in Abhängigkeit von Temperatur und Feuchtigkeit weiter verfolgt. Besonders wertvoll war es, daß einer von uns (Holz) diese Untersuchungen in einem klimatisch ganz anders gearteten Gebiete — dem Niederelbischen Obstbaugebiet — durchführen konnte. Während die bisherigen Versuche in Zossen und in Dahlem in einem ausgesprochen trockenen Gebiet vorgenommen wurden, ist das Niederelbische Obstbaugebiet sehr feucht. Auch die Spritzversuche wurden in beiden Gebieten fortgesetzt. Schließlich wurde mit der Untersuchung des Einflusses der Düngung auf das Auftreten von Fusicladium begonnen. Weiter wurden noch Veredlungen verschiedener Sorten auf ihre Anfälligkeit untersucht.

I. Die Entwicklung des Fusicladiums und seine Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren.

1. Die Perithezienentwicklung im Freiland.

A. Beobachtungen in Dahlem.

Die Untersuchung der Größe der Perithezien erfolgte wie im vergangenen Jahr. Sie brachte im allgemeinen eine Bestätigung der Untersuchungen des Jahres 1935. Die Größe der Perithezien zu den verschiedenen Untersuchungsterminen ist aus der Tab. 1 zu ersehen.

Demnach war die Entwicklung am 17. 3. etwa abgeschlossen. Die Schläuche enthielten zu diesem Zeitpunkt gelbe Askosporen. Als am 23. 3. aus den Blättern der Sorte Kaiser Wilhelm Perithezien herauspräpariert und zerdrückt wurden, zersprangen die Perithezien; die Asci blieben jedoch intakt. Im hängenden Tropfen setzte nach einigen Minuten das Ausschleudern der Sporen ein. Die Sporen keimten innerhalb von 3 Std. bereits zu 50%. Die Perithezien waren demnach reif. Das geht auch daraus hervor, daß nach Überbrausen der Blätter die Askosporen-Aussaat begann. Ende März setzte Regen ein, und infolgedessen wurden am 31. 3. bei den in Töpfen ausgelegten

Tab. 1. Perithezienentwicklung 1936.

Sorte	Maximale Große der Perithezien (∅ in μ) am							
	10. 12.	23. 12.	7. 1.	21. 1.	4. 2.	18. 2.	3. 3.	17. 3.
Charlamowsky	80	104	112	168	176	240	240	240
Weißer Klarapfel . . .	—	88	104	128	136	168	168	176
Prinzenapfel	88	96	112	—	—	—	—	160
Kaiser Wilhelm	—	104	128	128	144	144	144	192
Boskoop	—	48	56	120	128	—	—	—
Landsberger Renette .	80	88	96	104	144	152	160	192
Baumanns Renette . .	—	104	112	112	144	144	168	256
Ontario	88	88	96	120	128	128	144	176
London Pepping . . .	48	64	96	96	160	—	176	240

Blättern im Obstgarten der Biologischen Reichsanstalt die ersten Askosporen festgestellt und zwar bei den Sorten London Pepping und Charlamowsky.

In Zossen wurden die ersten Sporen-Aussaaten am 1. 4. ermittelt. Hier handelt es sich um die Sorte Charlamowsky. Die Sporen-Aussaat ließ dann trotz anhaltender Niederschläge nach und setzte am 15. 4. wieder kräftig ein. Die Aussaat dauerte dann bis zum 29. 4. Diese Zeit kann als Hauptsporenaussaat angesehen werden. Es folgten noch 2 kleinere Aussaaten vom 23. bis 27. 5. und vom 2. bis 8. 6. Die Sporen-Aussaat dauerte also vom 1. 4. bis 8. 6. Der Verlauf ist aus der Abb. 1 zu ersehen.

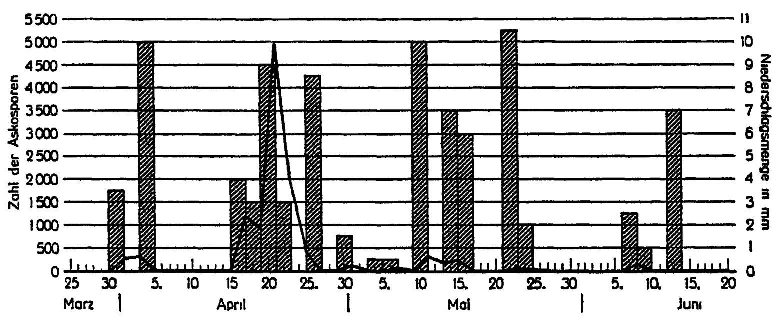


Abb. 1. Askosporenaussaat Zossen 1936.

B. Untersuchungen in Stade.

Die im Herbst gesammelten Apfelblätter wurden ebenso wie in Dahlem und in Zossen in Blumentöpfe gepackt und an verschiedenen Stellen des Niederelbischen Obstbaugebietes aufgestellt und zwar in Mittelnkirchen (Marsch), Wischhafen (Marsch), Bremervörde (Geest) und Stade (Geest). Bei der ersten Untersuchung im November (1935) waren die Perithezien als olivgrüne bis hellbraune kugelige Gebilde zu sehen. Bei der nächsten Kontrolle im Dezember waren fast alle Perithezien braun und zeigten eine heller gefärbte Vorwölbung: die Anlage zur Perithezienhalsbildung. Die Größe zu den verschiedenen Untersuchungsterminen ist aus der Tab. 2 ersichtlich.

Bei der 1. Untersuchung am 7. 1. 1936 waren auf dem inzwischen lang ausgewachsenen Perithezienhals die ersten Borsten als kleine Stummel

Tabelle 2.

Ort	Größe der Perithezien (∅ in μ) am							
	15. 11. 1935	10. 12. 1935	7. 1. 1936	28. 1. 1936	10. 2. 1936	3. 3. 1936	16. 3. 1936	23. 3. 1936
Mittelnkirchen (Marsch)	65	80	119	137	163	184	208	210
Wischhafen (Marsch) . .	55	85	117	131	144	168	212	216
Bremervörde (Geest) . .	50	85	105	121	146	176	192	197
Stade (Geest)	60	96	110	146	—	—	195	205

sichtbar. Im Innern der Schläuche waren vereinzelt Schläuche mit glashellen noch unentwickelten Askosporen zu sehen. Bei der nächsten Untersuchung am 28. 1. waren in den Perithezien der in Stade überwinterten Blätter bereits 5% reife Askosporen enthalten. Die prozentuale Zunahme von reifen Sporen in den Perithezien ist aus der Tab. 3 zu ersehen.

Tabelle 3.

Ort	Inhalt der Perithezien an reifen Askosporen (in %) am						
	7. 1. 1936	28. 1. 1936	10. 2. 1936	3. 3. 1936	16. 3. 1936	23. 3. 1936	30. 3. 1936
Mittelnkirchen	0	0	10	75	85	90	100
Wischhafen	0	0	20	80	90	90	100
Bremervörde	0	0	10	85	95	95	100
Stade	0	5	—	—	70	90	100

Die Askosporen waren demnach auch im Niederelbischen Obstbaugebiet Ende März reif.

Unsere Beobachtung im Vorjahre über die Perithezienentwicklung und die Reifung der Sporen wurde auch in diesem Jahr bestätigt. Die Reifung im Freiland schritt infolge der niedrigen Temperaturen von Anfang März bis etwa zum 23. 3. kaum fort. In den Blättern, die am 3. 3. in das Zimmer geholt wurden, waren die Askosporen innerhalb von 8 Tagen reif.

In den Niederelbischen Marschen nehmen die Wassergräben eine nicht unerhebliche Fläche (etwa 12—15%) ein. Im Herbst wird das abfallende Laub vielfach in die Gräben geweht. Es war daher wesentlich, festzustellen, ob die Entwicklung des Fusicladiums in diesen Blättern normal vor sich geht. Während die Perithezien der auf dem Lande überwinterten Blätter am 3. 3. durchschnittlich 174 μ groß waren und die Schläuche rund 80% reife Sporen enthielten, waren die Perithezien der Blätter aus den Wassergräben im Durchschnitt 145 μ groß. Die Schläuche waren zu diesem Zeitpunkt meist noch leer. Bei der Entnahme von Blättern am 15. 3. zeigte sich, daß die Perithezien durchschnittlich 170 μ groß waren und die Schläuche zu 70% reife Askosporen enthielten. Die Perithezien in den Blättern aus den Gräben waren demnach etwa 12 Tage in der Entwicklung zurück.

Da die Wassergräben nur alle 3—6 Jahre ausgeworfen (gekleit) werden, war festzustellen, ob in den Blättern, die mehrere Jahre in den Gräben gelegen hatten, Fusicladium noch lebensfähig vorhanden war. Es zeigte sich, daß die älteren Blätter vollkommen verfault waren, und daß nur die Blätter,

die im letzten Herbst in die Gräben gekommen waren, Perithezien mit lebensfähigen Askosporen enthielten.

Die Beobachtung an den Blättern aus den Wassergräben wurde an Blättern bestätigt, die in Schalen mit Wasser im kalten Gewächshaus gestanden hatten. Die Blätter waren gut erhalten und reichlich mit Perithezien besetzt; diese waren aber in ihrer Entwicklung etwa 14 Tage gegenüber denen, die in Topfen draußen überwintert hatten, zurück.

2. Der Einfluß der Düngung auf den Fusicladium-Befall.

Während für viele einjährige Kulturpflanzen der Einfluß der Düngung auf das Auftreten von Krankheiten und Schädlingen bekannt ist, liegen solche Untersuchungen für mehrjährige Kulturpflanzen kaum vor. Über den Einfluß der Düngung auf den Fusicladiumbefall hat gelegentlich Loewel berichtet. Auch eine Beobachtung in der Versuchsanlage von Herrn Welter in Zossen sprach dafür, daß durch Stickstoff die Anfälligkeit für Fusicladium erhöht wird. So erwiesen sich einige Halbstämme vom Schönen von Boskoop in der Nähe eines Hühnerstalles als stark befallen. Der Befall nahm mit der Entfernung von der Stallung ab.

Versuche an größeren Bäumen haben den Nachteil, daß sie sich über mehrere Jahre erstrecken müssen und außerdem, da die Bodenverhältnisse nie ganz gleichmäßig sein können, ist es erforderlich, wenn man einigermaßen sichere Ergebnisse erhalten will, für jede Versuchsreihe eine größere Zahl von Bäumen zu wählen, deren Auswertung erhebliche Arbeitsleistung erfordert. Schließlich birgt der verschieden starke Befall auch noch eine Fehlerquelle in sich. Es erschien deshalb angebracht, an kleineren Bäumchen durch künstliche Infektion die Fehlerquellen zu vermindern. Leider standen für die Versuche nur einjährige Sämlinge zur Verfügung. Sämlinge sind aber, wie unsere früheren Beobachtungen zeigten, sehr verschieden anfällig. Die Anzucht der Bäumchen erfolgte in größeren Blumentöpfen, und zwar wurde eine Reihe in Erde vom Versuchsfeld und eine andere in nährstoffarmen Bausand eingepflanzt. Die Pflanzen wurden im Frühjahr in Gruppen eingeteilt, die in regelmäßigen Abständen mit den betreffenden Nährsalzlösungen gegossen wurden. Sobald die Bäumchen 10—20 Blätter entwickelt hatten, kamen sie 24—48 Std. in eine Infektionskammer und wurden in der früher beschriebenen Weise mit Askosporen oder Konidien infiziert. Sodann blieben sie im Gewächshaus bei höherer Luftfeuchtigkeit etwa 4 Wochen stehen. Während dieser Zeit wurde in regelmäßigen Abständen der Befall ermittelt. Nachdem ein Versuch abgeschlossen war, wurden die Bäumchen zurückgeschnitten und nach kurzer Ruhezeit bei der gleichen Düngung wieder angetrieben. Die Versuchsreihe in Erde vom Versuchsfeld ließ infolge ihres Nährstoffgehaltes eine eindeutige Wirkung der verschiedenen Düngungen nicht erkennen.

Die Versuchsreihe in Bausand zeigte in der Anfälligkeit bei verschiedener Düngung größere Unterschiede. So zeigte sich im allgemeinen, daß die Anfälligkeit mit der Erhöhung der Stickstoffgaben größer wird, während mit steigender Kaliumgabe der Befall abnimmt. Bei diesen Versuchen störte jedoch die verschiedene Anfälligkeit der Wildlinge sehr, so daß abschließende Ergebnisse noch nicht erzielt wurden. Wesentlich könnte die Sicherheit der Versuche bei Anstellung an Veredelungen gehoben werden. Solches Material

stand jedoch noch nicht in ausreichendem Maße zur Verfügung. Es war aber möglich, Vorversuche mit abgeschnittenen Blättern von Veredlungen vorzunehmen, wobei die verschiedene Düngung durch Infiltration der Blätter mit entsprechenden Lösungen ersetzt wurde.

Zu den Versuchen wurden Blätter der Wintergoldparmäne verwendet. Die Infiltration wurde durch scharfes Evakuieren der in den Lösungen untergetauchten Blätter mit nachfolgender langsamer Druckverminderung vorgenommen. Dabei wurden $^1/_{20}$ molare Lösungen folgender Stoffe verwendet: Glukose, Asparagin, Harnstoff, Ammoniumsulfat und Ammoniumchlorid. Die Blätter wurden durch die Infiltration nicht geschädigt, wenn schnell genug die Luftwegigkeit der Interzellularen wieder hergestellt wurde. Sie wurden zu diesem Zweck in diffusem Licht auf Filtrierpapier mit der Unterseite nach oben ausgelegt. Nach 3 Std. hatten sie ihr Ausgangsgewicht annähernd wieder erreicht. Die Blätter hielten sich in der feuchten Kammer 14 Tage.

Bei den Versuchen wurden die mit den verschiedenen Lösungen infiltrierten Blätter, nachdem die Luftwegigkeit wieder hergestellt war, mit Konidienaufschwemmungen übersprüht und in Glasschalen, die mit feuchtem Filtrierpapier ausgelegt waren, gebracht. Die Schalen wurden dann in diffusem Licht aufgestellt. Ein Teil der Blätter wurde nach 3, ein anderer nach 5 und ein weiterer nach 9 Tagen mikroskopisch nach der von Holz beschriebenen Methode untersucht. Schon nach 3 Tagen waren merkliche Unterschiede festzustellen. Die Konidien keimten bei Harnstoff-Infiltration zu etwa 90%, bei Glukose zu etwa 75%, bei Ammoniumchlorid zu etwa 30%, während bei Ammoniumsulfat nur wenige und bei Wasser-Infiltration (Aqua dest.) und bei nicht infiltrierten nur ganz vereinzelt gekeimte Sporen zu finden waren. Dementsprechend war auch die Zahl der Infektionsstellen bei den verschieden behandelten Blättern verschieden. Auf den mit Harnstoff und Glukose infiltrierten Blättern waren sehr viele Infektionsstellen vorhanden, wenige dagegen bei Ammoniumchlorid, nur ganz vereinzelte bei Ammoniumsulfat, Aqua dest. und nicht infiltrierten, während bei Asparagin überhaupt keine vorhanden waren. Auch das Wachstum des Pilzes im Blatt und damit die Infektionsbilder waren recht unterschiedlich. Bei Harnstoffinfiltration gingen von der zentral gelegenen Myzelplatte 3—5 dicke Myzelstränge strahlenförmig auseinander. Schon nach 9 Tagen waren die Myzelstränge der verschiedenen Infektionsstellen durcheinander gewachsen. Die Blätter waren von einem dichten Myzelgeflecht durchzogen, ohne daß die Grenzen der einzelnen Infektionsstellen noch erkenntlich waren. Ähnlich war die Infektion bei Glukose-Infiltration; hier waren schon am 9. Tage Konidienträger zu erkennen. Wesentlich kleiner waren die Infektionsstellen bei Ammoniumchlorid. Das Myzel zeigte zuweilen starke Verdickungen. Die Myzelfäden der verschiedenen Infektionsstellen waren noch nicht durcheinander gewachsen. Wie schon betont, waren die Infektionen bei Ammoniumsulfat, Aqua dest. und nicht infiltrierten Blättern noch schwächer. Vielfach hatten die langen Keimschläuche die Kutikula noch nicht durchdrungen. Die Versuche lassen also erkennen, daß im allgemeinen durch Infiltration von Stickstoffsalzen die Anfälligkeit gegen Fusicladium erhöht wird. Ob aber diese Versuche geeignet sind, Düngungsversuche zu ersetzen, muß noch durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Insbesondere erhebt sich die Frage, ob die Methode bei anderen Düngemitteln, wie Kalium, Phosphor, verwendet werden kann.

3. Untersuchungen über die Anfälligkeit verschiedener Apfelsorten.

Für die Untersuchungen stand nur eine kleine Menge einjähriger Veredlungen verschiedener Sorten zur Verfügung. Die Bäumchen waren ebenfalls getopft und wurden in der früher beschriebenen Weise in Infektionskammern mit Askosporen bzw. mit Konidien von Blättern und Früchten infiziert. Zunächst wurde für die Infektion mit Askosporen Laub, von verschiedenen Sorten gemischt, verwendet. In diesem Laubgemisch fehlten Blätter der Sorte Roter Herbstkalvill. Das Ergebnis der Versuche ist aus Tab. 4 zu ersehen.

Tab. 4. Stärke des Blattbefalls.

Tag der Infektion		Einjährige Veredlungen der Sorten:							Einjährige Sämlinge
		Landsberger Renette	Prinzenapfel	Wintergoldparmäne	Schöner von Boskoop	Weißer Klarapfel	Baumanns Renette	Roter Herbstkalvill	
12. 5. 1936	Zahl d. infiziert. Bäumchen	3	3	3	3	3	3	3	3
	davon befallen	3	2	3	3	3	3	2	1
	Stärke des Befalls	3,5	0,5	2	4,5	3,0	4,0	0,5	1,0
19. 5. 1936	Zahl d. infiziert. Bäumchen	3	3	3	3	3	3	3	3
	davon befallen	3	2	3	3	3	3	2	3
	Stärke des Befalls	3,0	0,5	1,0	3,5	1,8	2,0	0,5	0,5

Als erheblich resistent erwies sich der Prinzenapfel. Dieselbe Feststellung wurde auch im Freiland gemacht. Der geringe Befall des Roten Herbstkalvill läßt sich daraus erklären, daß arteigene Sporen in dem Laubgemisch fehlten. Eine Bestätigung dieser Ansicht bringt die nächste Versuchsreihe. Bäumchen der Sorten Weißer Klarapfel und Baumanns Renette wurden mit Askosporen der gleichen Sorte wechselseitig, außerdem aber auch mit Blättern des Schönen von Boskoop infiziert. Dabei ergab sich, wie aus Tab. 5 zu erkennen ist, daß der Befall am höchsten ist, wenn mit Askosporen der gleichen Sorte infiziert wird. Bei günstigen Infektionen wird es sich daher empfehlen, wenn man besonders hohen Befall erzielen will, arteigene Askosporen zu verwenden.

Bei den Infektionen mit Konidienaufschwemmungen waren die Unterschiede, ob arteigene Konidien oder Konidien anderer Sorten verwendet wurden, nicht so groß wie bei der Verwendung von Askosporen. Dabei war es gleichgültig, ob die Konidien von Blättern oder Früchten der betr. Sorten stammten. Die Sicherheit der Konidieninfektion nahm im Spätsommer etwas ab, da die Konidien von den Apfelblättern nicht mehr so virulent waren. Dasselbe zeigte sich bei den Konidien von Früchten, die im Herbst allmählich ihre Virulenz einbüßten. Bei den Infektionen ergaben sich zeitweise Schwierigkeiten. Als Ursache stellte sich heraus, daß das Besprengen der Bäumchen mit Leitungswasser während der Anzucht der Grund für das Mißlingen der Infektion war. Durch das Bespritzen mit Leitungswasser entstehen nämlich auf den Blättern Flecke insbesondere von Kalzium- und Magnesiumsalzen, die bei der Infektion durch die hohe Luftfeuchtigkeit

Tab. 5. Stärke des Blattbefalls.

Askosporen aus Perithezien von Blättern der Sorte		Einjährige Veredlungen der Sorte Weißer Klarapfel	Einjährige Veredlungen der Sorte Baumanns Renette
Weißer Klarapfel	Zahl der infizierten Bäumchen .	3	3
	davon befallen	3	0
	Stärke des Befalls	4,5	0,5
Baumanns Renette	Zahl der infizierten Bäumchen .	3	3
	davon befallen	3	2
	Stärke des Befalls	2,0	2,5
Schöner von Boskoop	Zahl der infizierten Bäumchen .	3	3
	davon befallen	1	1
	Stärke des Befalls	1,5	1,0
Winter-Goldparmäne	Zahl der infizierten Bäumchen .	3	3
	davon befallen	2	1
	Stärke des Befalls	0,7	0,5

wieder in Lösung gehen und dann die Keimung der Sporen verhindern. Entsprechende Keimversuche mit Konidien in Leitungswasser, Aqua dest. und in Salzlösungen bestätigten die Vermutung. Während z. B. in Leitungswasser nach 18 Std. nur 3% der Sporen ausgekeimt waren, zeigten sich in Aqua dest. 80% und in 0,3 proz. Glukoselösung 90% gekeimte Sporen. Eine weitere Störung in den Infektionskammern wurde manchmal dadurch verursacht, daß das Wasser durch die Nesselbespannung hindurchtropfte; dadurch, daß das Dach der Kammern mit Glas belegt wurde, wurde diese Störung beseitigt.

II. Das Vorkommen des Grindes an Apfel im Niederelbischen Obstbaugebiet.

Während man früher meistens annahm, daß Konidien beim Apfel für die Erstinfektion nur eine geringe Rolle spielen, ist in letzter Zeit von verschiedenen Forschern (Dillon-Weston, Petherbridge, Goossens, Wiesmann) die Meinung vertreten worden, daß dem Schorf an den Zweigen (Grind), aus dem Konidien entlassen werden, erhebliche Bedeutung für die Primärinfektion beigemessen werden muß. Salmon hat festgestellt, daß der Grind an den einjährigen Trieben und die sog. „Pusteln" an den Knospenschuppen im Frühjahr zeitiger Konidien entlassen als die Perithezien in den überwinterten Blättern ihre Askosporen. Die gleiche Beobachtung wurde früher schon von Voges sowie von Morse und Darrow gemacht.

Bei unseren Untersuchungen in früheren Jahren konnten wir in der Umgebung von Berlin nur an einer Sorte, und zwar dem Virginischen Rosenapfel, Grind beobachten, aus dem 1935 schon am 22. 2. die ersten Konidien entlassen wurden. Im Niederelbischen Obstbaugebiet konnten wir am 3. 3. 1936 an Boskoop, Schurapfel, Altländer Glockenapfel, Bismarckapfel, Kautsander Boiken und Neuhäuser Boiken frisch aufgeplatzte Grindstellen, in denen keimfähige Konidien vorhanden waren, feststellen. Später wurden bei der Beobachtung des Askosporenfluges auf den Objektträgern nach jedem Regen neben Askosporen Konidien gefunden. Die Konidien mußten von grindigen Zweigen stammen, da an den aufbrechenden Knospen und den

sich entfaltenden Vorblättern noch kein Schorfbefall ermittelt werden konnte. Die starke Verbreitung des Grindes an den Apfelbäumen im Niederelbischen Obstbaugebiet ist auch für die Bekämpfung des Schorfes von erheblicher Bedeutung, da mit der Spritzung unter Umständen im Frühjahr zeitiger eingesetzt werden muß. Auch wird eine stärkere Konzentration der Spritzbrühe für die sog. „Kahlholzbekämpfung" von Vorteil sein können, die sich bei der Birnenschorfbekämpfung und nach Osterwalder (Blauspritzung) auch bei der Apfelschorfbekämpfung bewährt hat.

III. Die Bekämpfung des Fusicladiums.

1. Sporenflug und Infektion.

A. Versuche in Zossen.

Die Versuche wurden wiederum wie 1934 und 1935 in der Obstanlage des Herrn Welter durchgeführt.

Um einen Überblick über die in der Luft vorhandenen Sporen zu haben, wurden ebenfalls Sporenfallen aufgehängt, die in der Zeit vom 1. 4. bis 18. 6. durchweg alle 2 Tage ausgewechselt wurden. In Abb. 2 ist die Summe der

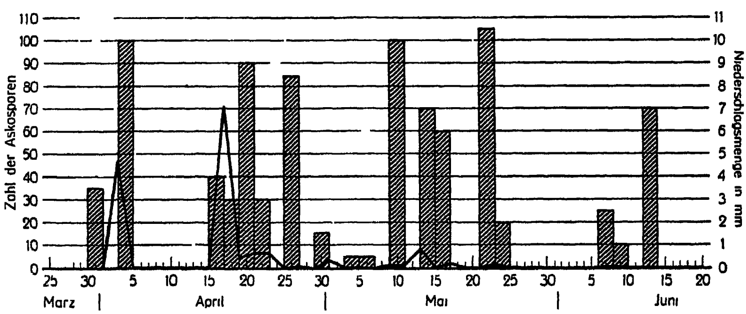


Abb. 2. Askosporenflug Zossen 1936.

auf 20 Sporenfallen festgestellten Askosporen eingezeichnet. Die ersten Askosporen wurden in den ersten Apriltagen gefunden. Da dann eine Trockenperiode bis zum 15. 4. einsetzte, wurden auch keine Sporen in der Luft gefunden. Erst nach einem kräftigen Regen wurde eine erhebliche Zahl von Sporen ermittelt, und zwar die meisten überhaupt während der Flugzeit. Die Zahl der Sporen ging dann wesentlich zurück. Die letzten wurden Anfang Juni gefunden. Die Kurven in den Abb. 1 (Sporenaussaat) und 2 (Sporenflug) decken sich wiederum sehr gut.

Infolge verhältnismäßig hoher durchschnittlicher Tagestemperaturen wurde die Entwicklung der Bäume so weit gefördert, daß bereits Ende März die Knospen sich öffneten. Weißer Klarapfel und Schöner von Boskoop waren am weitesten in der Entwicklung. Anfang April hatten alle Sorten der Versuchsanlage kleine quirlartig sich spreizende Blättchen. Als nach verhältnismäßig kühlen Tagen Mitte April Regen einsetzte und auch die Temperatur Ende des Monats anstieg, ging die Entwicklung schnell vor sich. Die Blüte setzte bei der Sorte Charlamowsky am 2. Mai, bei Cox-Orangen-Renette am 9. Mai ein. Zur Zeit des ersten Sporenfluges war mithin schon die Möglichkeit zu einer Infektion gegeben. Auch der Hauptsporenflug traf die Blättchen in einem sehr anfälligen Stadium. Die ersten Infektionsstellen

waren mikroskopisch bereits in den ersten Maitagen festzustellen. Am 9. Mai wurden die ersten Konidien auf den Sporenfallen beobachtet und auch an verschiedenen Sorten makroskopisch Fusicladiumflecke festgestellt.

B. Versuche im Niederelbischen Obstbaugebiet.

Der Askosporenflug wurde an denselben Stellen wie die Askosporenaussaat festgestellt. Die Askosporen in der Luft wurden an 3 Stellen am 30. 3. gefunden. Abb. 3 zeigt den Verlauf des Sporenfluges an den verschiedenen Orten. Der Flug war in Wischhafen schon Ende April, in Bremervörde und Mittelnkirchen am 8. 5. und in Stade am 14. 5. beendet.

In der Abb. 3 fällt besonders auf, daß der Sporenflug in Mittelnkirchen sehr gering war. In dem Obsthof, in dem die Sporenfallen aufgehängt waren, wird schon seit vielen Jahren regelmäßig und gründlich Schädlingsbekämpfung betrieben, so daß Fusicladium hier nur noch schwach auftritt.

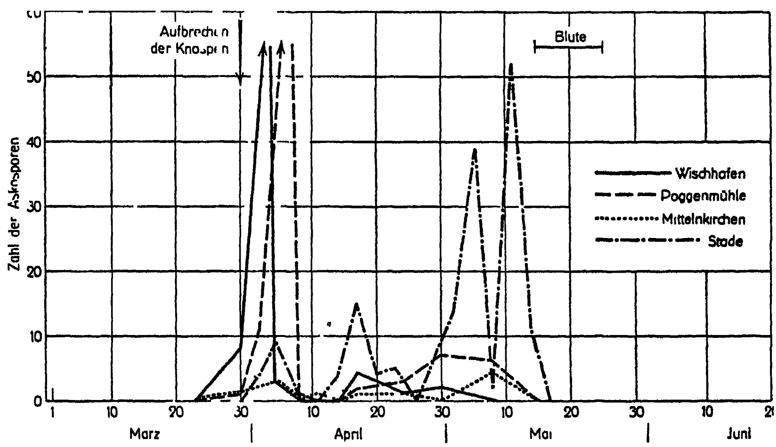


Abb. 3. Askosporenflug im Niederelbischen Obstbaugebiet 1936.

Für die Unterschiede im Verlauf des Sporenfluges zwischen Bremervörde und Wischhafen einerseits und Stade andererseits sind andere Ursachen von Bedeutung. Im Niederelbischen Obstbaugebiet wird häufig beobachtet, daß in Obsthöfen, in denen der Boden eine Grasnarbe trägt, schon von Mitte April an die im Gras überwinternden Blätter ziemlich plötzlich — vermutlich durch Regenwurmtätigkeit — von der Oberfläche verschwinden. In den Höfen, in denen eine Grasnarbe nicht vorhanden ist, sind die Blätter noch später zu finden. Es besteht also die Wahrscheinlichkeit, daß der Unterschied in dem Verlauf des Sporenfluges mit dem Verschwinden der überwinternden Blätter in Zusammenhang steht.

Die Entwicklung der Bäume geht aus nachstehender Zusammenstellung hervor:

30. März 1936: Nach einem warmen Regen öffnen sich die Knospen.
15. April 1936: Die grünen Vorblätter beginnen sich an der Spitze zu lockern und biegen sich vereinzelt zurück.
25. April 1936: Vorblätter entfalten sich.
5. Mai 1936: Vorblätter sind voll entfaltet, dicht gedrängt an ihrem Grunde die Blütenknospen.

Tabelle 6.

Apfelsorte	Tag der Behandlung	Zahl der behandelten Baume	Gesamtertrag in kg	% Befall nach Gewicht	Unbehandelt Zahl der Bäume	Unbehandelt Gesamtertrag in kg	Unbehandelt % Befall nach Gewicht
Charlamowsky	6.— 7. 4. 21.—22. 4.	4	65	34,6	2	12,8	83,6
	6.— 7. 4. 21.—22. 4. 27. 4.	4	60	20,3			
Weißer Klarapfel	6.— 7. 4. 21.—22. 4.	8	241,5	4,8	8	177	46,2
	6.— 7. 4. 21.—22. 4. 27. 4.	11	273,1	2,3			
Kaiser Wilhelm	6.— 7. 4. 21.—22. 4.	9	184,5	7,6	8	61,0	34,4
	6.— 7. 4. 21.—22. 4. 27. 4.	10	49,6	5,2			
Schöner von Boskoop	6.— 7. 4. 21.—22. 4.	9	162	9,9	8	50,0	47,0
	6.— 7. 4. 21.—22. 4. 27. 4.	10	135,9	6,2			
Landsberger Renette	6.— 7. 4. 21.—22. 4.	3	180,5	9,4	4	96,5	47,6
	6.— 7. 4. 21.—22. 4. 27. 4.	4	148,5	3,4			
Minister von Hammerstein	6.— 7. 4. 21.—22. 4.	5	98	16,3	5	89,3	79,3
	6.— 7. 4. 21.—22. 4. 27. 4.	3	145	15,9			
Baumanns Renette	6.— 7. 4. 21.—22. 4.	15	451,5	27,3	11	377	67,4
	6.— 7. 4. 21.—22. 4. 27. 4.	14	376,7	10,7			
Cox' Orangen Renette	6.— 7. 4. 21.—22. 4.	15	161,5	4,3	13	10,1	58,4
	6.— 7. 4. 21.—22. 4. 27.4.	14	189,4	3,4			

9. Mai 1936: Blütenstiele verlängern sich. Blüten im Rötungsstadium.
13. Mai 1936: Blüten beginnen sich zu öffnen.
15. Mai 1936: Mittlere Blüte geöffnet.
15.—25. Mai 1936: Blütezeit.

Beim Einsetzen des ersten Sporenfluges begannen sich die Knospen eben zu öffnen, so daß eine Infektion schon möglich war. Mit dem Einsetzen der Blütezeit war der Sporenflug abgeschlossen.

Die ersten makroskopisch sichtbaren Fusicladiumflecke wurden am 7. 5. gefunden. Wann die erste Infektion eingetreten ist, läßt sich nicht ohne weiteres sagen. Während des Sporenfluges herrschte durchweg kühles und sehr feuchtes Wetter. Bei unseren vorjährigen Untersuchungen zeigte sich, daß bei niedrigen Temperaturen eine Infektion möglich ist und daß der Durchbruch der Konidien erst bei hohen Temperaturen erfolgt. Es ist daher anzunehmen, daß die Infektion schon beim 1. Sporenflug erfolgt ist, infolge der kühlen Witterung der Befall aber nicht eher sichtbar wurde.

2. Spritzversuche.

A. Versuche in Zossen.

In der Obstanlage des Herrn Welter standen für die Versuche insgesamt über 400 Bäume von 9 Sorten zur Verfügung. Gespritzt wurde mit 1 proz. Kupferkalkbrühe.

Nachdem festgestellt war, daß die Askosporen Ende März reif waren, war zu erwarten, daß nach dem nächsten Niederschlag das Ausschleudern einsetzen würde. Infolgedessen hätte sofort mit der Spritzung begonnen werden müssen. Durch die Niederschläge konnte die Spritzung erst am 6. und 7. 4. vorgenommen werden. Ebenso verhinderten Niederschläge eine rechtzeitige Spritzung z. Zt. des Hauptsporenfluges. Infolgedessen waren die Erfolge der Spritzungen vor allem bei den stärker befallenen Sorten nicht befriedigend. Die Ergebnisse bestätigen also wieder, daß die Infektion sehr schnell erfolgt und dann eine Verbreitung der Krankheit durch Spritzung nicht mehr verhindert werden kann. Selbst durch eine spätere Spritzung, die in einer besonderen Versuchsreihe, in der nach der Entwicklung der Bäume gespritzt wurde, vorgenommen wurde, konnte der Befall nicht wesentlich vermindert werden (Tab. 6).

B. Versuche im Niederelbischen Obstbaugebiet.

Die Versuche wurden an 6 verschiedenen Orten, und zwar auf der Geest in Villah, Bremervörde und Daudieck und in der Marsch in Esch, Götzdorf und Wischhafen durchgeführt.

Da ebenfalls festgestellt war, daß die Askosporen Ende März reif waren, war zu erwarten, daß der am 30. 3. niedergehende Regen den Askosporenflug auslösen würde. Die Versuchsansteller wurden deshalb benachrichtigt, sofort zu spritzen. Trotz des Regens am 1. und 2. 4. kamen einige der Aufforderung nach, während in Esch und Wischhafen erst am 3. und 4. 4. gespritzt wurde. Die weiteren Spritzungen wurden im Abstande von 8—10 Tagen vorgenommen. Eine Übersicht über die Spritztermine und die verwendeten Mittel ist aus der Tab. 7 zu ersehen.

Die Feststellung des Blattbefalls am 28. 8. hatte das in Tab. 8 dargestellte Ergebnis.

Bei der Auswertung des Fruchtbefalls wurden die Früchte nach den vom Deutschen Pflanzenschutzdienst bei der Mittelprüfung gegebenen Richtlinien sortiert. Nach diesen Richtlinien bedeutet:

0 = kein Befall.
1 = schwacher Befall = 1 Fleck (bis 5 mm Durchmesser oder 6 kleine Flecken).
2 = mittelstarker Befall = mehr als 6 kleine Flecken oder 1 über 5 mm großer Fleck; mehr als die Hälfte der Frucht ist frei von Flecken.

Tabelle 7.

Ort	Sorte	1. Spritzung Termin und Mittel	2. Spritzung Termin und Mittel	3. Spritzung Termin und Mittel	4. Spritzung Termin und Mittel	5. Spritzung Termin und Mittel
Villah	Boskoop	1. 4. 2% Kupferkalk Wacker	11. 4. 2% Kupferkalk Wacker	21. 4. 2% Kupferkalk Wacker	—	—
Bremervorde	Cox' Orangen Renette	1. 4. 2% Kupferkalkbruhe	11. 4. 2% Kupferkalkbruhe	26. 4. 2% Kupferkalkbruhe	3. 5. 2% Kupferkalkbruhe	—
Daudieck	Horneburger Pfannkuchen	2. 4. 2% Kupferkalkbruhe	11. 4. 2% Kupferkalkbruhe	20. 4. 2% Kupferkalkbruhe	29. 4. 2% Kupferkalkbruhe	5. 5. 1,5% Kupferkalkbruhe
Götzdorf	Schurapfel	2. 4. 2% Kupferkalk Wacker	11. 4. 2% Kupferkalk Wacker	20. 4. 2% Kupferkalk Wacker	28. 4. 2% Kupferkalk Wacker	5. 5. 1% Kupferkalk Wacker
Esch	Coulons Renette	3. 4. 2% Kupferkalk Wacker	11. 4. 2% Kupferkalk Wacker	21. 4. 2% Kupferkalk Wacker	28. 4. 2% Kupferkalk Wacker	4. 5. 2% Nosprasit
Wischhafen	Bismarckapfel	4. 4. 2% Kupferkalk Wacker	11. 4. 2% Kupferkalk Wacker	20. 4. 2% Kupferkalk Wacker	25. 4. 2% Kupferkalk Wacker	2. 5. 2% Kupferkalk Wacker

Tab. 8. Starke des Blattbefalls.

Ort:	Villah	Bremervorde	Daudieck	Gotzdorf	Esch	Wischhafen
Sorte:	Boskoop	Cox' Orangen Renette	Horneburger Pfannkuchen	Schurapfel	Coulons Renette	Bismarckapfel
Blattbefall am 28. 8. 1936						
gespritzt	0,5	0,5	0,2	0	1,5	1,7
unbehandelt	5,0	4,0	3,0	2,5	5,0	5,0

3 = starker Befall. Frucht ist ringsum mit Flecken bedeckt oder einzelne sehr große Flecken, wodurch die Frucht verkrüppelt ist.

In der Tab. 9 sind die Befallsgruppen 0 und 1 zusammengefaßt, da durch geringen Befall der Gruppe 1 der Verkaufswert nicht herabgesetzt wurde.

Die Versuche im Niederelbischen Obstbaugebiet zeigen ebenfalls, daß ein Befall nach erfolgter Infektion durch die Spritzung nicht verhindert werden kann. Sie zeigen ferner, daß es schwer ist, durch spätere Spritzungen

Tabelle 9.

Ort	Sorte	Behandelt				Unbehandelt			
		Gesamtzahl der Äpfel	Befall in %			Gesamtzahl der Äpfel	Befall in %		
			0 + 1	2	3		0 + 1	2	3
Villah	Boskoop	2804	91,7	6,5	1,8	450	10,8	36,0	53,2
Bremervorde	Cox' Orange Renette	643	90,0	8,4	1,6	298	53,6	40,2	6,2
		412	97,2	2,8	0				
		104	99,2	0,8	0				
		1034	86,4	12,0	1,6				
Daudieck	Horneburger Pfannkuchen	498	99,5	0,5	0	409	75,0	23,5	1,5
		254	99,0	1,0	0				
		397	98,5	1,5	0				
		152	100,0	0	0				
Gotzdorf	Schurapfel	1260	99,5	0,4	0,1	1554	63,0	26,9	10,1
		1264	99,0	0,9	0,1				
		1078	98,2	1,8	0				
		1346	99,8	0,15	0,05				
Esch	Coulons Renette	115	67,0	23,5	9,5	59	6,8	35,6	57,6
		84	69,0	28,5	2,5				
		133	78,0	20,9	1,1				
		399	79,0	20,5	0,5				
Wischhafen	Bismarckapfel	1194	60,0	28,2	11,8	2600	2,7	15,4	81,9
		1285	75,5	19,6	4,9				

die Früchte fleckenfrei zu erhalten, wenn die Erstinfektion nicht verhindert werden konnte.

Die diesjährigen Spritzversuche haben also wiederum den Beweis erbracht, daß durch die Feststellung des Sporenfluges, der sich sehr gut durch Beobachtung der Sporenaussaat an gesammelten Blättern verfolgen läßt, sicherer gestaltet werden kann. Wiederum konnten allein durch 3 Spritzungen zum richtigen Zeitpunkt vor der Blüte recht befriedigende Erfolge erzielt werden. Loewel hat vor kurzem die Ansicht vertreten, daß eine Spritzung in die Blüte den größten Erfolg hätte. Als Beweis führte er u. a. unsere Versuche des Jahres 1934 an. Wir hatten schon betont, daß es unmöglich ist, auf Grund einjähriger Versuche endgültige Richtlinien zu geben. Zu welchem Ergebnis eine Spritzung z. Zt. der Blüte geführt hätte, zeigen deutlich die Versuche 1935 und besonders 1936. Im letzten Jahr war im Niederelbischen Obstbaugebiet der Sporenflug z. Zt. der Blüte abgeschlossen. Die ersten Infektionen waren schon Anfang Mai zu beobachten, während die Blüte erst gegen Mitte Mai einsetzte. Eine Spritzung in die Blüte hätte also kaum den Fusicladiumbefall beeinflussen können. Wir können uns auch der Ansicht von Küthe nicht anschließen, der früher den Standpunkt vertrat, daß man unter Umständen die Vorblütenspritzungen einsparen könne. Neuerdings hat er die Ansicht geäußert, man würde mit nur einer Spritzung vor der Blüte auskommen. Gewiß wird man, wenn man mit dieser Spritzung die Infektion während des Hauptsporenfluges verhindert, sehr gute Erfolge erzielen. Unsere Beobachtungen in den Jahren 1934—1936 haben aber gezeigt, daß es bei der kurvenmäßigen Darstellung des Askosporenfluges mehrere Spitzen gibt. Es ist unmöglich, während der Zeit des starken Wachstums der Blätter diese mit einer Spritzung

genügend gegen die Infektionen zu schützen. Bei der Bekämpfung des Fusicladiums kommt es darauf an, daß während des ganzen Askosporenfluges die Blätter mit den Fungiziden bedeckt sind. Da der Sporenflug im allgemeinen vor der Blüte liegen wird, sind auch die Vorblütenspritzungen durchweg die wichtigsten. Eine Spritzung vor der Blüte wird nur in seltenen Fällen ausreichen.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse der Untersuchungen der Perithezienentwicklung des Jahres 1935 wurden bestätigt. Die Perithezien waren sowohl in Zossen wie auch im Niederelbischen Obstbaugebiet Ende März reif. Die ersten Askosporen in der Luft wurden in Zossen in der Zeit vom 1.—3. 4., im Niederelbischen Obstbaugebiet am 30. 3. gefunden. Während in Zossen noch Anfang Juni Askosporen in der Luft festgestellt wurden, war der Askosporenflug im Niederelbischen Obstbaugebiet an einer Stelle bereits Ende April, an 2 weiteren am 8. 5. und an der 4. am 14. 5. abgeschlossen.

Blätter aus den Wassergräben enthielten nur noch dann lebensfähiges Fusicladium, wenn sie im vorhergehenden Herbst in die Gräben gekommen waren. Die Perithezien in solchen Blättern waren in ihrer Entwicklung etwa 14 Tage gegenüber den in Töpfen gehaltenen zurück.

Versuche mit verschiedenen Düngesalzen an Topfbäumchen ergaben im allgemeinen einen stärkeren Befall bei Stickstoffgaben, während bei Kalidüngung ein geringerer Befall beobachtet wurde. Da nur Wildlinge zur Verfügung standen, die schon verschieden stark anfällig sind, kann die Frage noch nicht endgültig entschieden werden.

Infiltrationsversuche mit verschiedenen Salzlösungen an Blättern der Wintergoldparmäne ließen ebenfalls eine Steigerung des Befalls bei Verwendung von Stickstoffsalzen erkennen.

Bei Infektionsversuchen mit Askosporen an Veredlungen zeigte sich, daß der Befall bei Verwendung arteigner Sporen größer ist als bei solchen von anderen Sorten.

Bei der Verwendung von Konidien waren die Unterschiede nicht so groß.

Während in der Gegend von Berlin Schorf an den Zweigen (Grind) beim Apfel nur an einer Sorte festgestellt wurde, wurde er im Niederelbischen Obstbaugebiet bisher an 6 Sorten gefunden.

In Zossen konnten die Spritzungen infolge Niederschläge nicht rechtzeitig nach dem Sporenflug vorgenommen werden. Infolgedessen war der Erfolg der Spritzung insbesondere bei stärkerem Befall nicht ausreichend. Im Niederelbischen Obstbaugebiet dagegen wurde in den Fällen, in denen trotz der Niederschläge die 1. Spritzung während oder kurz nach dem 1. Sporenflug ausgeführt wurde, ein voller Erfolg erzielt.

Literaturverzeichnis.

Dillon-Weston, A. R. W., and Petherbridge, F., Apple and pear scab in East-Anglia. (Cambridge Agric. Journ. of Pomol., Bull. 11. 1934. p. 185—198.) — Goossens, J., Onderzoek naar de eerste infektiebron van appel en perenschurft. (Tijdschr. over plantenziekten. Vol. 40. 1934. p. 174—176.) — Keitt, G. W., and Jones, L. K., Studies of epidemiology and control of apple scab. (Agr. Exp. Sta. Univ. of Wisconsin. Res. Bull. Vol. 73. 1926. p. 1—104.) — Küthe, K., Im Bericht über die Tätigkeit des Instituts für Pflanzenkrankheiten 1935/36. (Landw. Jahrb. Bd. 84. 1937. S. 99—100.) — Loewel, E. L., Das Auftreten des Fusicladiums im Altländer Obstbaugebiet in seiner Abhängigkeit von Klima, Standort, Obstarten und -sorten und seine praktische Bekämpfung auf Grund

zweijähriger Versuche des Obstbauversuchsringes. Diss. Berlin 1932. — Ders., Die Apfelblüte als Spritztermin. (Gartenbauwiss. Bd. 10. 1936. S. 232—245.) — Morse, W. J., and Darrow, W. H., Is apple scab on young shoots a source of spring infection? (Phytopathology. Vol. 3. 1913. p. 265—269.) — Mothes, K., Die Vakuuminfiltration im Ernährungsversuch. (Planta. Bd. 19. 1933. S. 117—138.) — Osterwalder, A., Winterspritzung mit 6% Bordeauxbrühe gegen Schorf- und Weißfleckenkrankheit. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau, Wädenswil. Bd. 44. 1935. S. 81—86.) — Salmon, E. S., A new fact in the life history of the apple scab. (The gardeners Chronicle. 1931. p. 437—438.) — Voges, E., Zum Parasitismus von Nektria und Fusicladium. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. 1912. S. 540—551.) — Wiesmann, R., Untersuchungen über die Überwinterung des Apfelschorfpilzes im toten Blatt sowie die Ausbreitung von Sommersporen des Apfelschorfpilzes. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1932. S. 619—679.) — Ders., Untersuchungen über die Bedeutung der Askosporen (Wintersporen) und Konidien an den schorfigen Trieben für die Entstehung der Primärinfektionen des Apfelschorfpilzes Fusicladium dendriticum. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1935. S. 147—175.) — Winkelmann, A. und Holz, W., Beiträge zur Biologie und Bekämpfung des Apfelschorfes (Fusicladium dendriticum [Wallr.] Fckl.). I. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 92. 1935. S. 47—67.) II. (Ebenda. Bd. 94. 1936. S. 196—215.)

Der Forschungsgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, die auch die vorliegenden Untersuchungen durch Mittel unterstützte, danken wir für diese Unterstützung bestens.

Ein Beitrag zum Problem der Antisepsis.

[Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Karls-Universität in Prag.]

Von **J. Kořínek.**

Auf die sehr umfangreiche Literatur über das Problem der Antisepsis wollen wir nicht eingehen. Ältere Angaben findet man in den Handbüchern von W. Kruse, neuere bei Buchanan und Fulmer oder bei Jordan und Falk. Die Antiseptica spielen besonders in der Pharmazie ein große Rolle u. a. auch bei der Herstellung von Sirupen.

Die meisten Sirupe können nicht steril zubereitet, sondern bestenfalls nur pasteurisiert werden, so daß sie keineswegs gegen die Zersetzung geschützt sind. Zudem ist es öfters notwendig, die Sirupflaschen zu öffnen, wobei eine Verunreinigung durch die Mikroflora der Luft nicht zu vermeiden ist.

Am schädlichsten und gefährlichsten für die Sirupe und anderes zuckerhaltiges Material sind bekanntlich die Schimmelpilze und Hefen. Besonders die ersteren vermögen sich noch bei sehr hohem osmotischen Druck und bei geringer Luftfeuchtigkeit zu entwickeln. Wenn sie dabei den Zucker verbraucht und auf diese Weise den osmotischen Druck des Mediums herabgesetzt haben, wird weiterhin den Bakterien das Wachstum ermöglicht. Die Schimmelpilze sind schließlich auch imstande, die Milchsäure, die bei manchen Gärungsvorgängen entsteht und als natürliches Antisepticum gegen gewisse Bakterien wirkt, zu zersetzen.

Um diese gefährlichen Schädlinge möglichst auszuschalten, sagt eine alte pharmazeutische Erfahrung, daß die Flaschen mit kaltem, nicht mit heißem Sirup gefüllt werden sollen; dadurch soll vermieden werden, daß sich oberhalb des Sirups am Glasrand Wassertropfen bilden, in denen, wenn diese mit dem Sirup in Berührung kommen, Sporen leicht auskeimen können.

Als chemische Schutzmittel gegen Schimmelpilze und Hefen haben sich die Derivate der p-Oxyl-Benzoesäure sehr bewährt. In der Tschechoslowakei werden zwei solcher Präparate angewendet und zwar der Methylester und der Natriumisopropylester der genannten Säure. Sie werden von der Firma B. Fragner in Prag hergestellt und unter den Namen Septisan und Propisol in den Handel gebracht. Wir haben mit diesen Antisepticis einige Versuche gemacht und werden im folgenden über die Arbeiten mit Propisol berichten. Wir sind jedoch überzeugt, daß dieselben Ergebnisse auch mit dem anderen Antisepticum erreicht werden konnten.

Schutz der Sirupe gegen Hefen.

Wenn die Sirupe gegen Hefen geschützt werden sollen, müssen sie möglichst rein, d. h. vor allem ohne jegliche Spur von Eiweißstoffen hergestellt werden. Diese Erfahrung gründet sich auf folgende Versuche:

16 Kölbchen wurden mit einer Lösung von 50% Saccharose in destilliertem Wasser gefüllt. Eine zweite Reihe von Kolbchen erhielt dieselbe Zuckermenge zu 1proz. Peptonlösung. Beide Serien wurden mit einer Preßhefensuspension in der Weise beimpft, daß die Kölbchen fortlaufend 1, 2, 3—15 Tropfen der Hefenaufschwemmung erhielten. In jeder Reihe blieb ein Kölbchen als Kontrolle unbeimpft. Außerdem wurde der Einfluß der Lösungsverdünnung bei höherer Tropfenzahl durch einen entsprechenden Zusatz von Wasser ausgeglichen; zu einem Tropfen Impfaufschwemmung wurden also 14 Tropfen Wasser und zu 14 Tropfen Impfung 1 Tropfen Wasser zugegeben usw.

Nach 20 Std. konnte in allen Peptonsaccharosekölbchen lebhafte Gärung festgestellt werden, während in reiner Saccharoselösung auch nach einigen Wochen keinerlei Gärung sichtbar war. Diese letztere Erscheinung läßt sich nicht durch eine ungenügende Impfmenge erklären; denn in Zuckerpeptonlosung rief bereits ein Tropfen der Impfaufschwemmung in kurzer Zeit Gärung hervor. In reiner Zuckerlösung erfolgte selbst bei einer Impfung mit 15 Tropfen keine Gärung. Auch durch Biosmangel kann die Beobachtung nicht erklärt werden, weil wenigstens mit den größeren Impfmengen hinreichend Bios in die Nährlösung eingebracht wird, um die Weiterentwicklung der Hefen anzuregen. Solche Impfmengen dürften auch zur Entgiftung der Lösung imstande sein, wenn Spuren von Giftstoffen anwesend sein sollten. Unsere Beobachtung kann somit nur dadurch erklärt werden, daß sich die Hefen in Medien von hohem osmotischen Druck lediglich bei Gegenwart von Pepton zu entwickeln vermögen. Für die Praxis der Sirupherstellung ergibt sich daraus, daß Sirupe möglichst wenig Eiweißstoffe enthalten sollen und daß bei ihrer Verarbeitung größte Sauberkeit zu empfehlen ist. Es sei noch bemerkt, daß der osmotische Druck der Zuckerlösung durch Zugabe von Pepton je nach der Beschaffenheit desselben mehr oder weniger erhöht wird.

Symbiose von Hefen und Bakterien?

Die Rolle des Peptons bei der Entwicklung von Hefen legt die Frage nahe, ob die Anwesenheit von Bakterien in Sirupen die Tätigkeit der Hefen beeinflußt. Um darüber Klarheit zu gewinnen, wurde 50proz. Saccharoselösung mit reinem Wasser und mit verdünnter Fleischbrühe hergestellt, in Kölbchen sterilisiert und mit Saccharomyces cerevisiae beimpft. Einige Kölbchen wurden als Kontrollen nicht weiter behandelt. Die übrigen Gefäße wurden außerdem mit solchen Mikroorganismen beimpft,

durch die Sirupe leicht verunreinigt werden können, wie Sarcina lutea, B. coli, B. vulgare, B. prodigiosum, B. pyocyaneum, B. mycoides, B. anthracoides, Penicillium glaucum und Mucor mucedo.

Bei den Versuchen wurde festgestellt, daß keiner der genannten Mikroorganismen den Gärungsprozeß in Saccharosebouillon merklich beeinflußt hatte. In reiner Zuckerlösung war wiederum in keinem Falle Gärung eingetreten. Es kann also gefolgert werden, daß die Mikroorganismen nicht imstande sind, die Hefen zu aktivieren.

Synergismus von chemischer Wirkung und osmotischem Druck bei der Antisepsis.

Antisepsis läßt sich entweder durch chemische oder durch osmotische Wirkung erreichen. Wir haben das Zusammenwirken beider Einflüsse in folgenden Untersuchungen beobachtet:

Einer zehnfach verdünnten Fleischbrühe wurde Saccharose zugesetzt, so daß Lösungen mit 1, 10, 20, 30, 40, 50 und 60% Saccharosegehalt entstanden. Bei der Abfüllung in Kölbchen wurde teilweise unsteril gearbeitet, so daß die Nährlösung durch Luftinfektion Schimmelpilze und Bakterienmischkultur enthielt; teilweise wurde die sterile Nährlösung mit Schimmelpilzen und einer Reinkultur von B. vulgaris oder B. coli beimpft. Eine Reihe der Versuchsgefäße blieb ohne Antisepticum; einer zweiten Reihe wurde 0,075% Propisol zugegeben. Diese Menge genügt allein zur vollkommenen Abtötung der Bakterien nicht. Wie Tab. 1 zeigt, konnte

Tabelle 1.

	Zusatz an Saccharose						
	1%	10%	20%	30%	40%	50%	60%
Ohne Antisepticum	+	+	+	+	+	—	—
Mit 0,075% Propisol	+	+	+	+	—	—	—

+ Trübung durch Bakterienwachstum; — = keine Trübung.

auch in beiden Reihen bis zu einer Konzentration von 30% Saccharose in der Nährlösung Bakterienwachstum als Trübung der Lösung festgestellt werden. Es war am frühesten im Kölbchen mit 1proz. Saccharose ohne Antisepticum und am spätesten bei 30% Saccharose mit Antisepticum zu beobachten. In 40 proz. Saccharoselösung war Bakterienwachstum nur noch in den Kölbchen ohne Antisepticum eingetreten, bei einem Zusatz von 50 und 60% Saccharose war auch ohne Antisepticum kein Wachstum mehr erkennbar. Eine solche Zuckerkonzentration vermag allerdings nur das Bakterienwachstum zu unterdrücken, während Schimmelpilze auch bei diesem osmotischen Druck noch zu wachsen vermögen.

Wenn die Versuche mit nur viermal verdünnter Fleischbrühe angesetzt wurden, war noch bei einem Saccharosezusatz von 60% ohne Antisepticum Trübung der Nährlösung festzustellen.

Der antiseptische Synergismus von hohem osmotischen Druck und chemischer Einwirkung läßt sich in der Lösung mit 40% Saccharosegehalt erkennen. Wie die Tab. 1 zeigt, genügt der osmotische Druck dieser Konzentration allein nicht zur vollständigen Sterilisierung der Nährlösung.

Da in normaler Fleischbrühe zu vollkommener Entkeimung ein Zusatz von 0,2% des Antisepticums erforderlich ist, kann auch dem Propisolzusatz von 0,075% allein die Abtötung der Mikroorganismen nicht zugeschrieben werden. Die Beziehung der antiseptischen Wirkung zu osmotischem Druck und Menge des Antisepticums ist fast linear. Fur das Antisepticum ist dies nach Ehrlichs Theorie von den Chemoreceptoren begreiflich. Legt man die Mindestwerte der Zuckerkonzentration und der Propisolmenge für die Sterilisation einer Nährlösung zugrunde, so würde sich für das Zusammenwirken der beiden Einflüsse ergeben, daß bei 25% Saccharose und 0,05% Antisepticum kein Wachstum von Mikroorganismen mehr erfolgen dürfte. Nach unseren Beobachtungen sind jedoch bei der Kombination beider Einwirkungen höherer osmotischer Druck und größere Menge von Antisepticum zur Erzielung völliger Keimfreiheit nötig. Hieraus ist zu schließen, daß die Mikroorganismen entweder bei Anwesenheit des Antisepticums noch unter höherem osmotischen Druck lebensfähig bleiben oder unter dem Einfluß des osmotischen Druckes gegen das Antisepticum resistenter werden. Die erste Annahme dürfte kaum richtig sein. Die Richtigkeit der zweiten Annahme liegt näher, da eine Dehydratation der Mikroorganismen durch hohen osmotischen Druck der Nährlösung denkbar ist, durch welche die Organismen bekanntlich gegen äußere Einflüsse widerstandsfähiger werden. Jedenfalls hat sich gezeigt, daß osmotischer Druck der Nährlösung und chemischer Einfluß des Antisepticums zur Bestimmung der Sterilisationswirkung nicht einfach addiert werden können.

Tabelle 2.

Substrat	Zusatz an Propisol						Entwicklung der
	0%	0,04%	0,08%	0,12%	0,16%	0,20%	
Normale Bouillon	± ++++	— +++	— ++	— +	— +	— —	Schimmelpilze Bakterien
Bouillon + 1% NaCl	± +++	— ++	— +	— —	— —	— —	Schimmelpilze Bakterien
Bouillon + 2% NaCl	± +++	— ++	— +	— —	— —	— —	Schimmelpilze Bakterien
Bouillon + 3% NaCl	± +++	— —	— —	— —	— —	— —	Schimmelpilze Bakterien
Bouillon + 4% NaCl	+ ++	— —	— —	— —	— —	— —	Schimmelpilze Bakterien
Bouillon + 5% NaCl	++ ++	— —	— —	— —	— —	— —	Schimmelpilze Bakterien
Bouillon + 6% NaCl	++ +	— —	— —	— —	— —	— —	Schimmelpilze Bakterien

Das Zusammenwirken der beiden Größen wurde in einer weiteren Versuchsreihe beobachtet, bei der einer normalen Fleischbrühe verschiedene Mengen von Propisol oder von Propisol und Kochsalz zugesetzt wurden. Die Abstufung der Konzentrationen und das Wachstum von Schimmelpilzen und Bakterien sind in Tab. 2 wiedergegeben worden. Es zeigt sich, daß die osmotische Wirkung des Kochsalzes und die chemische Wirkung

des Antisepticums gleichgerichtet sind. Völlige Sterilisation wird durch Zusatz von 0,2% Propisol zu einer Nährlösung erreicht; bei einem Kochsalzgehalt von 1 und 2% in der Nährlösung genügen dazu 0,12% Propisol; eine Nährlösung mit mehr als 3% Kochsalz ist bereits bei Zugabe von 0,04% Propisol steril.

Besonders zu beachten ist die bei einem Zusatz von 5 und 6% Kochsalz zur Nährlösung ohne Propisol eintretende Umkehrung des Wachstumsverhältnisses von Schimmelpilzen und Bakterien. Bei kleineren Salzkonzentrationen sind die Bakterien stärker entwickelt als die Schimmelpilze. Letztere treten jedoch bei höheren Salzmengen in den Vordergrund. Die Beobachtung konnte bei mehrfacher Wiederholung des Versuches bestätigt werden und ist wohl dadurch zu erklären, daß der hohe osmotische Druck das Bakterienwachstum hemmt, nicht aber das Wachstum der Schimmelpilze. Weiterhin darf daraus gefolgert werden, daß die Bakterien bei geringerem osmotischen Druck ein wirksames Hindernis für die Entwicklung der Schimmelpilze sein können.

Ähnliche Ergebnisse waren festzustellen, wenn zwecks Abtötung der Bakterien Kupferkarbonat zugesetzt wurde. War die Menge des Karbonatzusatzes so weit gesteigert, daß Bakterien nicht mehr wachsen konnten, erschienen immer die Schimmelpilze an der Oberfläche der Kupferbouillon. Ohne den vorher geschilderten Versuch mit Kochsalzzusatz könnte diese Erscheinung fälschlich als Kuprophilie der Schimmelpilze gedeutet werden (vgl.: Kořínek, Über die Mikroflora eines natürlichen Kupferbodens).

Bei diesen Versuchen wurde weiterhin festgestellt, daß das Bakterienwachstum die Schimmelpilze um so vollkommener unterdrückt, je stärker die Fleischbrühe verdünnt worden ist. In unverdünnter oder wenig verdünnter Fleischbrühe können neben Bakterien auch Schimmelpilze wachsen.

Zusammenfassung.

1. In Zuckerlösungen verschiedener Konzentration konnte alkoholische Gärung durch Hefen erst nach Zusatz von Pepton erreicht werden.

2. Anwesenheit von Bakterien beeinflußt die Wirksamkeit der Hefen nicht oder nur unbedeutend.

3. Treffen chemische und osmotische Wirkungen zusammen, so sind größere Mengen des Antisepticums aufzuwenden als theoretisch zunächst anzunehmen ist. Es wird die Vermutung ausgesprochen, daß der höhere osmotische Druck des Substrates eine Dehydratation der Mikroorganismen bewirkt, wodurch dieselben gegen chemische Einflüsse resistenter werden.

4. Beim Zusammenwirken von Antisepticum und osmotischem Druck ist Sterilität um so schwieriger zu erreichen, je höher der Eiweißgehalt des Substrates ist.

5. Schimmelpilze werden durch Anwesenheit von Bakterien stärker im Wachstum gehemmt als durch hohen osmotischen Druck. In Lösungen, die reich an Nährstoffen sind, findet keine gegenseitige Hemmung statt.

Literatur.

Buchanan, R., and Fulmer, E., Physiology and biochemistry of bacteria. London 1928. — Jordan, E., and Falk, I., The newer knowledge of bacteriology and immunology. Chicago 1929. — Kořínek, J., Über die Mikroflora eines natürlichen Kupferbodens. Im Druck. — Kruse, W., Mikrobiologie. Leipzig 1910.

Das Bacterium vulgare in der Milchwirtschaft[1]).

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Preuß. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel.]

Von **Otto Plähn.**

Mit 9 Abbildungen im Text.

A. Einleitung.

Die ersten Untersuchungen über Bact. vulgare wurden von Hauser (1) in seiner Arbeit „über Fäulnisbildner" veröffentlicht. Ganz allgemein faßte man damals die Organismen, die bei fauligen Prozessen zugegen waren, unter dem Namen Bact. thermo zusammen. Man nahm, durch die große Variabilität der Zellformen getäuscht, an, daß viele Bakterienarten an diesem Prozeß beteiligt sind. Erst Hauser (1) wies nach, daß es sich hier zur Hauptsache um ein Bakterium handelt, das überall dort zu finden ist, wo Substanzen in Verwesung übergegangen sind, also um den eigentlichen Fäulniserreger. Er nannte das Bacterium Proteus vulgaris. Ihm zu Ehren änderte man den Namen später in Bact. proteus vulgaris (Hauser) um. Heute ist die Bezeichnung Bact. vulgare allgemein eingeführt.

Die Frage, wie verhält sich das Bact. vulgare in der Milchwirtschaft, ist bis heute unbeantwortet geblieben. Denn da Hauser eine toxische Wirkung des Bact. vulgare nachwies, galt das Interesse ganz allgemein diesem Befund. So soll diese Arbeit eine Lücke ausfüllen und einen Aufschluß über die Bedeutung des Bacteriums in der Milchwirtschaft geben.

Bact. vulgare gehört zu den alkalibildenden Bakterien, hat also die Eigenschaft, Eiweißstoffe unter alkalischer Reaktion zu spalten. Es tritt, wie Henneberg (2) bereits mitteilt und Versuche einwandfrei ergaben, in Milch am häufigsten an kalten Tagen auf, also bei solchen Temperaturen, die ein Wachstum und eine Vermehrung der Milchsäurebakterien und somit auch die Bildung ihrer für andere Bakterien schädlichen Stoffwechselprodukte sehr stark hemmen. Stork (34) wies nach, daß in dem ersten und letzten Jahresviertel die Alkalibildner überwiegen. In Tab. 1 sind die Ergebnisse 2 jähriger Untersuchungen von Milchen auf Säurebildner und Alkalibildner in Kurven zur Darstellung gebracht. Die Kurve der Milchsäurebakterien hat im Juli bis August ihren Höhepunkt erreicht. Während dieser Zeit sind die Entwicklungsbedingungen für die Alkalibildner sehr schlecht. Dieser Zustand ändert sich aber mit dem Einsetzen der kälteren Jahreszeit, in welcher die Milchsäurebakterien ihren tiefsten Punkt erreichen, die Alkalibildner sich aber sehr stark entwickeln. Milchuntersuchungen ergaben, daß Bact. vulgare im Sommer selten, im Winter dagegen viel öfter gefunden wurde.

Die Fäulnisbildner können auf zwei Wegen in die Frischmilch gelangen:

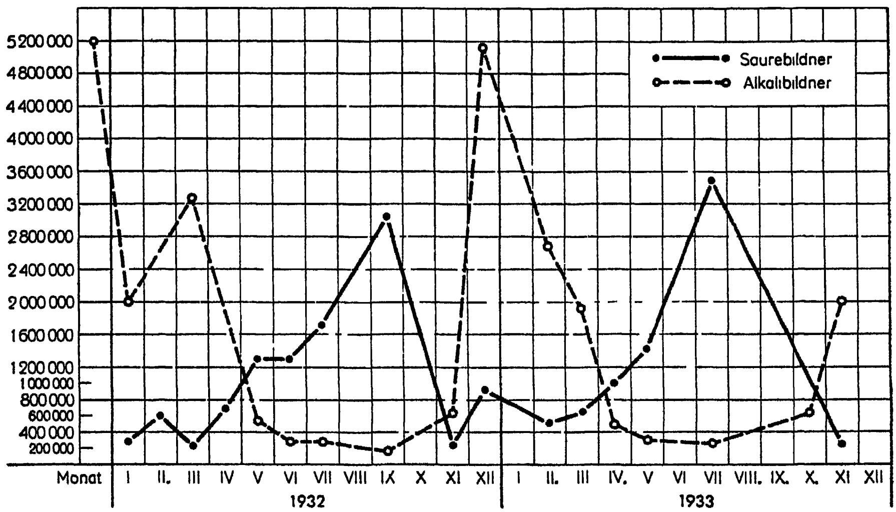
1. durch eine Infektion des Euters selbst, da nach Henneberg (2) gewisse Alkalibildner zur Innenflora desselben gehören. Zu diesen ge-

[1]) Erschienen als Dissertation der Philosophischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität Kiel.

hort **B a c t. v u l g a r e** aber nicht, und somit scheidet diese Infektionsmoglichkeit aus;

2. durch Staub, Wasser, Kuhkot, unsauberes Melken usw. Die letzte Annahme trifft zu. Die infizierte Milch wird von den Bakterien peptonisiert und dadurch in ihrem Wert erheblich herabgesetzt. Das Eiweiß wird dabei zu Aminosäuren und Ammoniak abgebaut.

Tabelle 1.



Ebenso wie die Milch, wird auch Weichkäse sofort angegriffen und zersetzt. Durch die kühle Temperatur im Lagerkeller gelingt es dem Bakterium, sich ungehemmt zu vermehren, und in kurzer Zeit bringt es den Käse zum Abfließen. Seltener ist sein Vorkommen auf Hartkäsen.

Das Bakterium ist ein nicht zu unterschätzender Schädling für die Milch wie auch für den Weichkäse.

B. Literaturübersicht.

Über Milch- und Käseuntersuchungen liegen nur wenige Angaben vor. Dagegen ist die Morphologie und Physiologie des Bakteriums ausgezeichnet bearbeitet. Es sei dieserhalb auf das große kritische Sammelreferat von Z e i s s (33) verwiesen.

Die erste eingehende Arbeit über **B a c t. v u l g a r e** veroffentlichte H a u s e r (1). In seiner Arbeit führt er drei Arten an: **P r o t e u s v u l g a r i s, m i r a b i l i s** und **Z e n k e r i**. Trotzdem er erklärt, daß für die Einzelarten keine durchgreifenden Merkmale anzugeben sind, scheint es ihm aber doch gerechtfertigt zu sein, eine Trennung vorzunehmen. Von mir ausgeführte Untersuchungen uber morphologische Unterscheidungsmerkmale waren völlig negativ. Alle 16 von mir untersuchten Stämme zeigten nicht die geringsten morphologischen Unterschiede. H a u s e r s Stamm **P r o t e u s m i r a b i l i s** verflüssigt sehr langsam Gelatine und bildet in älteren Kulturen kokkenähnliche Formen aus. Auf Grund dieser Beobachtung ist eine Trennung nicht möglich, da diese Formen regelmäßig in älteren Kulturen

auftreten, nur die Bildungszeit ist eine verschiedene. Hauser fand zwischen ganz normalen Zellen solche mit Birnenformen, die er als Involutionszellen deutete. Die Richtigkeit dieser Deutung beweisen meine Versuche mit höheren Kochsalzkonzentrationen. Dabei traten regelmäßig diese Involutionsformen auf. Proteus zenkeri verflüssigt keine Gelatine, ist aber in seinen sonstigen Eigenschaften ein typischer Proteus.

Lieske (6) bezeichnet das Bakterium als ein in seinen Größen sehr variables Stäbchen, das allgemein bei der Fäulnis auftritt. Weigmann (3) weist auf den Fettabbau hin, der neben dem Kaseinabbau auftritt und der Milch einen bitteren und ranzigen Geschmack verleiht. Lehmann und Neumann (4) geben in ihrem bakteriologischen Bestimmungsbuch eine sehr gute und eingehende morphologische, wie auch physiologische Beschreibung. Henneberg (2) fand das Bakterium als großen Schädling im Harzer-, wie auch in anderen fehlerhaften Käsen. Er beschreibt 3 Stämme, die keine morphologischen, wohl aber physiologische Unterschiede aufweisen. Bergey (5) beschreibt 13 physiologisch verschiedene Stämme. Als Grundtyp bezeichnet er, wie auch Hauser, das Bacterium proteus vulgare. Für ihn gelten die Unterscheidungsmerkmale, die Hauser zuerst aufstellte: schlechte oder fehlende Gelatineverflüssigung, die Indolreaktion und die Vergärung einzelner Zuckerarten.

Henneberg (2) weist auf die Ähnlichkeit mancher Stämme mit dem Bact. Zopfii hin und glaubt eine sehr nahe Verwandtschaft feststellen zu können. Hauser (1) liefert eine sehr gute Beobachtung des Schwärmvorganges. Ruß und Munzer (7) sehen in dem Schwärmen eine gerichtete Bewegung, die erst bei auftretendem Nahrungsmangel einsetzt. Seifert (8) konnte feststellen, daß auf mit Proteus beimpften Nährboden nach der Entfernung der Bakterienschicht neu aufgeimpfte Bakterien sich nicht entwickelten, also Hemmung durch eigene Stoffwechselprodukte eintritt. Dieselbe Wirkung der Stoffwechselprodukte auch in flüssigen Nährmedien wird von Moltke (9) mitgeteilt.

Meyerhoff (10) hat in erster Linie die pathogene Eigenschaft des Bact. proteus in seinen Arbeiten berücksichtigt. Es gelang ihm nicht, durch einfache Fütterung eine toxische Wirkung bei Tieren nachzuweisen. Erst durch Injektionen von jauchigen Flüssigkeiten in die Blutbahn erreichte er ein Absterben der Versuchstiere. Braun und Salomon (11) berichteten über das unterschiedliche Verhalten der Fleckfieber- und der syprophytischen Proteus-Stämme. Kulturell scheinen sie sich nicht zu unterscheiden. Das einzig abweichende Verhalten betrifft die stärkere Indolbildung der Fleckfieberstämme. Zweifel (16) führt eine Fleischvergiftung durch Bact. vulgare an. Eine Differenzierung pathogener Stämme wurde von Klieneberger (17) unternommen.

Der Einfluß der Agar- und Gelatinekonzentration auf den Schwärmvorgang wurde von Hempt (18) untersucht. Durch einen Gelatinezusatz wird die Durchlässigkeit des Agars erhöht, so daß er leichter durchschwärmt werden kann. Kollath (19) gibt eine Methode an, mittels der das Schwärmen auf festen Nährmedien verhindert werden kann. Man behandelt den frischgegossenen Agar mit 96proz. Alkohol einige Minuten lang und läßt ihn dann trocknen. Durch die wasserentziehende Wirkung des Alkohols hat der Nährboden nicht mehr genug Feuchtigkeit, die nötig ist, um den Schwärmvorgang einsetzen zu lassen. Das Bakterium wächst dann in kleinen Kolonien. Sartorius (20) erreichte dasselbe mit chemischen Mitteln, indem er aromatische Verbindungen zusetzte.

Über Geißelbehang, -bewegung und -färbung liegen Arbeiten von Reichert (21), Stigell (22) und Henneberg (2) vor. Herzfeld und Klinger (23) teilten mit, daß Bact. vulgare das Tryptophan teils zu Indol abbaut. Diese Eigenschaft haben nicht alle Stämme. Glenn (24) fand ebenfalls indolpositive und indolnegative Stämme. In seiner Arbeit über Oxydations- und Reduktionswirkung des Bact. vulgare konnte Kramer (25) nachweisen, daß die Wirkung des Bakteriums der eines Oxydationsmittels gleich ist. Taylor (26) analysierte abgebautes Kasein und konnte nachweisen, daß sich unter den Abbauprodukten mit größter Wahrscheinlichkeit Lysin und Histidin befinden. Bei Untersuchungen über das Ranzigwerden der Butter fand Reinmann (27) einen Stamm Proteus mirabilis. Allerdings ist das Vorkommen des Bakteriums dort ganz selten. Aber sein häufiges Auftreten in der Milch und im Käse bestätigt Harrison (28).

Zur Proteus-Diagnose teilt Heim (29) mit, daß er der Ansicht ist, daß es sich bei dem von Hauser beschriebenen Proteus Zenkeri um das Bact. Zopfii handelt oder eine nahverwandte Art. Ein Unterschied zwischen den beiden

Mikroben ist das Fehlen des Schwärmvermögens beim Bact. Zopfii. Der Geißelbehang ist bei Proteus etwas dichter. Proteus ist gram-negativ, Zopfii jedenfalls in jungen Kulturen positiv.

C. Vorkommen, Isolation, Rein- und Fortzucht des Bact. vulgare.

1. Vorkommen. Wie aus der Tab. 1 hervorgeht, ist Bact. vulgare in den warmen Jahreszeiten selten in der Milch anzutreffen, dagegen sehr oft in der Winter-Stallmilch. Im Sommer war oft von 30 untersuchten Milchen keine mit Bact. vulgare infiziert. Die Isolierungen aus der Stallmilch gelingen viel häufiger, denn durch Wasser, Heu, Kot. unsauberes Melken, schlecht gewaschene Kannen usw. wird die Milch fast immer infiziert. Bact. vulgare kommt niemals im Euter vor. In seltenen Fällen kann man es aus Buttermilch isolieren. Regelmäßig scheint sein Vorkommen im Harzer Käse zu sein, denn von mir untersuchte Proben waren größtenteils positiv. Aber sein Vorkommen beschränkt sich nicht nur auf diesen Weichkäse, sondern dehnt sich auf alle anderen aus. Ausgenommen davon sind Weichkäse, die aus hocherhitzter Milch hergestellt sind, da das Bakterium bei der Pasteurisierung abgetötet wird. Es könnte sich bei einem positiven Befund nur um eine nachträgliche Infektion handeln. Öfter wird Proteus auf den Rinden von Hartkäsen gefunden. Die infizierten Stellen sind klebrig und von brauner Farbe. Zur Untersuchung gelangte meistens nur Tilsiter. In der Butter war nie die Anwesenheit des Bakteriums nachzuweisen.



Abb. 1.
Normale Zellen mit Geißelzöpfen.

Die Verbreitung in der Natur ist sehr groß. Hauser entdeckte, daß Bact. vulgare der Haupterreger jeder Fäulnis ist, der also überall dort vorkommen muß, wo Substanzen in Verwesung übergegangen sind. Diese Annahme wurde im Laufe der Jahre bestätigt. In der Medizin ist das Bakterium als Erreger von schlecht verheilenden Eiterungen bekannt und gefürchtet. Ebenso spielt er als Erreger der Blasenkrankheit eine Rolle. Ist es ihm einmal gelungen, in die Blase einzudringen, dann führt diese Infektion oft zum Tode. Bekannt ist es als Toxinbildner auf Fleischwaren. Sein Vermögen, auch auf Kartoffeln Gift zu bilden, scheint weniger bekannt zu sein. Henneberg (2) erwähnt die Vergiftungen von Tieren durch Fütterung gedämpfter Kartoffeln. Kurz, das Vorkommen des Bakteriums ist allgemein und es ist nicht übertrieben, wenn Meyerhoff das Bact. vulgare als das am meisten vorkommende bezeichnet.

2. Isolation und Reinzucht.

Die zu untersuchenden Proben werden stark verdünnt und dann in Peptonwasser (3%) geimpft, um eine Anreicherung der anwesenden Mikroben zu erwirken. Man bebrütet 24 Std. bei 30° und impft dann etwas von der nun stark getrübten Lösung auf einen frischgegossenen Kunzo-Agar. Schon bei Zimmertemperatur, schneller noch bei 30°, breitet sich in wenigen Stunden ein hauchdünnes, graues Netz über die Oberfläche des Nährbodens. Um sicher zu gehen, keine Fremdkeime mit überzuimpfen, streicht man mit einer sehr dünnen Öse etwas von der Randschicht des Belags ab und impft dieses auf eine andere Platte über. Mit ziemlicher Sicherheit kann man annehmen, nach 3—4 Passagen eine Reinkultur zu erhalten. Die zuerst dünne, graue Schicht wird nach einigen Tagen immer dicker und zeigt stellenweise weiße Auflagerungen. Ist der

Wassergehalt eines Agars nicht zu groß, dann setzt eine Ringbildung während des Schwärmens ein, d. h. um die Impfstelle bilden sich in Abständen kreisartige Erhebungen, die durch dünne Schichten getrennt sind. Diese Ringbildung deutet mit großer Sicherheit Bact. vulgare an. Unerläßlich für die Bestimmung ist die Geißelfärbung. Das Bakterium zeigt einen dichten, peritrich angeordneten Geißelbehang.

Will man das Vorkommen des Bakteriums in der umgebenden Luft nachweisen, oder es daraus isolieren, dann stellt man zu diesem Zweck ein Stückchen Fleisch offen auf. Schon nach 2—3 Tagen ist die Oberfläche stark verändert, grau-gelblich geworden und strömt einen widerlichen Geruch aus, der stark an Verwesung erinnert. Impft man etwas von dieser Schicht auf einen Nährboden auf, so läßt sich das Vorhandensein des Bakteriums sehr leicht nachweisen.

Zusammensetzung des Nährbodens.

100 g Wasseragar + 1% Pepton. Nach der Sterilisierung gibt man noch 1/2 ccm einer 5proz. Karbolsäurelösung hinzu. Dieser Nährboden eignet sich ganz besonders gut für eine Isolation. Das Schwärmen setzt nicht ein, sondern das Bakterium wächst in kleinen weiß-gelblichen Kolonien, die sich sehr leicht abimpfen lassen.

3. Fortzucht.

Man impft von einer Reinkultur auf einen Bouillonschrägagar über und dichtet gut mit Paraffin ab. Bei 10—13° hält sich die Kultur wochenlang frisch, da bei diesen Temperaturen noch ein schwaches Wachstum stattfindet. Nach 8 Wochen ist es nötig, die Kultur aufzufrischen, meistens genügt dafür eine Passage.

4. Kulturelle und morphologische Eigenschaften.

Methodik. Die Untersuchungen wurden mittels der Hennebergschen Agardeckglasmethode ausgeführt. Auf einen frisch gegossenen Agar werden mit einer Platinöse von dem zu untersuchenden Material 3—4 Striche gezogen, die gleichzeitig eine Verdünnung bedingen. Über jeden von diesen wird ein Deckglas gelegt. Bei optimaler Wachstumstemperatur bebrütet man ungefähr 24 Std.

Dieser Versuch ergab eindeutig, daß die auftretenden Zellformen bei allen Stämmen völlig gleich waren. Es ist das um so interessanter, als die Größe und Art der Formen ein und desselben Stammes stark variieren.

Untersucht man eine Gelatinekultur, die 14 Tage alt ist und bei Zimmertemperatur gestanden hat, so findet man die ganze Gelatine verflüssigt. Sie besteht aus einer trüben, undurchsichtigen Masse, die einen widerlichen Geruch ausströmt. Der Boden des Glases ist mit einer dicken, weißen Bakterienschicht bedeckt, die nur aus dicken, kurzen Stäbchen besteht. Viele sind so kurz, daß man sie als kugelförmig bezeichnen kann. Diese Kurzstäbchen haben eine Größe von 0,8—3,7 : 0,4—0,7 μ. Die Enden sind stumpfkantig und dunkler als die Mitte. Viele der Zellen bilden Diploformen, selten zeigen sie 3, 4 und mehr Glieder. Neben diesen Arten gibt es alle möglichen Variationen, bis zur Fadenform. Letztere wird aber nur während des Schwärmens gebildet, sobald das aber aussetzt, zerfallen sie in die „normalen" Stäbchen. Der Zellinhalt aller Bakterien ist klar. Eine Körnelung tritt ab und zu bei den Schwärmzellen auf, aber auch bei älteren Kulturen. In diesen liegen die Stäbchen paarweise zusammen und bilden, wie bei Coli Geldrollenformen. Alle sind mit einer dicken Schleimschicht umgeben, die das Zusammenkleben der einzelnen Bakterien hervorruft. Impft man sie auf ein frisches Nährmedium über, dann entstehen die dicken, plumpen Formen, die eine große Beweglichkeit zeigen. Aus der ruhenden Lage schießen sie plötzlich davon, lagern sich manchmal zu vielen zusammen, um sich in der nächsten Sekunde wieder „aufzulösen". Die Doppelstäbchen vollführen eine kegelförmige Bewegung, dessen gemeinschaftliche Achse den Ver-

einigungspunkt beider Zellen schneidet. Man beobachtet es besonders gut, wenn die Stäbchen senkrecht im Blickfeld stehen. Nicht selten findet man neben diesen Formen zitronenähnliche Gebilde, die als Involutionsformen aufzufassen sind. Besonders treten diese Zellen bei NaCl-Zusatz in Erscheinung. Steigt der Salzzusatz, dann nehmen die Stäbchen immer größere Formen an, die die Länge der Schwärmfäden erreichen.

Nach *Zettnow* gefärbt, zeigen die Stäbchen eine Unmenge peritrich angeordneter Geißeln, die den Körper kranzförmig einbetten. Die Kultur mag noch so alt sein, immer weisen die einzelnen Zellen einen Geißelbehang auf, der aber in den meisten Fällen nicht so stark ist, wie bei jungen, kräftigen Bakterienleibern.



Abb. 2.
Zerfallende Schwärmfäden.



Abb. 3
Geißelapparat.

5. Das Schwärmphänomen.

Man hat ganz allgemein die Ringbildung des *Bact. vulgare* das „Schwärmphänomen" genannt. Dieser Ausdruck wird um so verständlicher, je mehr man diese seltsame Erscheinung kennenlernt.

Das Schwärmen und die im Laufe dieses Vorgangs auftretenden morphologischen Eigenschaften sind zuerst von *Hauser* beschrieben worden. Spätere Arbeiten bestätigen seine Ausführungen und vervollkommnen sie. Nach ihm sind es *Moltke* (9) und *Ruß-Münzer* (7), die die Frage nach der Ursache dieses Phänomens aufwerfen. Sie kommen zu der Ansicht, daß es sich bei diesem Vorgang um eine zielbewußte Reaktion handelt, die durch Übervölkerung und damit verbundenem Hunger entsteht und die ein Aufsuchen besserer Lebensbedingungen bezweckt. Wir hatten hier also eine durch äußere Einflüsse ausgelöste, gesetzmäßige Aufeinanderfolge verschiedener Wuchsformen vor uns. *Hausam* (35) untersuchte den Einfluß von Tag und Nacht, da er beobachtet hatte, daß die Bildung der einzelnen Ringe mit dem Wechsel der Tageszeiten parallel ging. Wie sich aber ergab, spielten diese Faktoren nicht die geringste Rolle beim Schwärmen. Das Schwärmen unterblieb auf einem Nährboden, der vorher von *Bact. vulgare* überwachsen war.

Eigene Untersuchungen.

Wurde die Mitte einer frisch gegossenen Platte mit einer Bakterienaufschwemmung von *Bact. vulgare* beimpft, so hatte sich nach einigen

Stunden um die Impfstelle herum ein dünner silbrig glänzender Belag gebildet, der im Laufe weiterer Stunden immer größer und dicker wurde. Bei sehr feuchten Nährboden breitete sich dieser Belag immer weiter aus, ohne Ringe zu bilden, bis schließlich der Rand der Platte erreicht war. Um dieses zu vermeiden, stellte ich eine frisch gegossene Platte vor der Beimpfung 10—11 Std. in den Brutschrank bei 40° C. Nach dieser Zeit war der Wassergehalt des Agars vermindert, und zwar um so viel, daß kein ringloses Schwärmen mehr stattfand.

Etwa 2 Std. nach der Beimpfung sah man bei mikroskopischer Beobachtung, daß sich um das punktförmig aufgeimpfte Material kleine Treppen gebildet hatten, deren tiefste Stufe der äußerste Rand war. Die jeweils letzte Stufe wurde durch ein Herausschieben vieler Zellen gebildet, die durch die einsetzende Vermehrung aus dem eigentlichen Verband ausgestoßen wurden. Eine Bewegung war bei keinem Stäbchen festzustellen. In etwa 1 Std. verschob sich der äußere Rand um 10 μ. Nach und nach zeigten einige von den Randzellen eine schwache Bewegung, die aber bald wieder aufhörte. Nach 7 Std. bemerkte ich in der Randzone die Bildung größerer Zellen, die überall um den ganzen Rand herum gleichmäßig auftraten. Nach und nach bildeten sich mehr längere und dickere Formen, die schließlich ringartig die Masse der kleinen Zellen einschlossen. Plötzlich fingen sie an, sich langsam vom Rande zu lösen. Diese langsame Bewegung dauerte nur eine kurze Zeit. Die einzeln herumliegenden Zellen wurden immer länger und legten sich in Spiralen und ähnlichen Formen. Teilweise zeigten sie eben sichtbare Einschnürungen, doch trat eine Teilung nicht ein. Viele von den Fäden legten sich nebeneinander und bildeten alle möglichen Figuren. Aus diesen Verbänden lösten sich ab und zu einige Schwärmzellen und eroberten sich ein neues Areal. Ganz allmählich hörte dann die Bildung der langen, dünnen Fäden auf und es begann ein allgemeiner Zerfall in die bekannten Stäbchen. Am Rande dieses überwachsenen Agarstückchens sammelten sich aber immer noch lange Zellen an, die sich dann sofort teilten, so daß eine dicke Bakterienschicht entstand. Die Vermehrung in dieser Zone war sehr stark, während sie zwischen zwei Schwärmringen nur sehr langsam vor sich ging. So entstanden auf dem Agar die ringförmigen Kreise, die „einem Wall ähnlich sind". Der erste Zyklus der Schwärmperiode war vorbei. Nach einer Erholungszeit setzte er wieder ein und wiederholte sich so lange, bis die ganze Agaroberfläche überwachsen war.



Abb. 4.
Ringbildung bei Bact. vulgare

Ganz anders verlief der Schwärmvorgang auf sehr feuchten Nährböden. Anfangs bildeten sich auch als erste Vermehrungsformen kleine, stumpfkantige Stäbchen, deren Bewegungsvermögen ebenfalls schwach war. Setzte die Bildung der Schwärmzellen ein, so war diese Platte bald überschwärmt, denn diese Fäden bewegten sich sehr schnell vorwärts. Hier trat keine Ringbildung mehr ein, denn der feuchte Nährboden gestattete eine sehr schnelle Fortbewegung. Die Schwärmzellen erreichten durchschnittlich eine Länge von 50 μ, teilweise sogar von 100 μ. Der Zellinhalt war hell und klar, doch

zeigte sich öfter eine feine Körnelung. Die Enden der Fäden waren spitz, nicht stumpfkantig, wie bei der normalen Form.

Bei Temperaturen unter 18° setzte der Schwarmvorgang sehr langsam ein, ähnlich wie auf wasserarmen Nährboden. Die ersten Ringe bildeten sich in gleichen Zeitabständen, doch mit dem Größerwerden des Radius änderten sie sich und wurden uneinheitlich. — Eine eventuelle Begründung für den Mehrgebrauch an Zeit bei der Bildung der größeren Ringe wäre folgende: Mit jedem neu zu bildenden Ring steigert sich die Arbeitsleistung, da die Zahl der Schwärmzellen immer größer werden muß, um das nächste Areal überschwärmen zu können.

Der Einsatz des Schwärmens, d. h. die Bildung der Fäden, ließ sich durch größere Einsaatmengen beschleunigen. Impfte man auf mehrere



Abb. 5.
Schwärmfäden von Bact. vulgare.



Abb. 6.
Variationsformen eines Stammes.

Platten verschieden große Mengen Bakterien auf, so machte sich eine Verzögerung des Schwärmens von der starken zur schwachen Einsaatmenge bemerkbar.

Eine Erscheinung, die noch erwähnt sei, war die antagonistische Wirkung zweier Kolonien aufeinander. Wurden zwei Zentren einer Platte mit einem Tropfen einer Aufschwemmung beimpft, so wuchsen die sich ausbreitenden Schwärmhöfe nicht ineinander, sondern blieben durch eine 1—2 mm breite Zone getrennt. Es ist bekannt, daß B a c t. v u l g a r e durch eigene Stoffwechselprodukte im Wachstum gehemmt wird und es liegt daher die Vermutung nahe, daß in diesem Falle die antagonistische Hemmung auf hinüberdiffundierende Stoffe zurückzuführen ist.

Die Ansicht, daß der Schwärmvorgang nur während eines Hungerstadiums einsetzt, scheint mir unwahrscheinlich zu sein, denn folgende Befunde sprechen dagegen. Beimpfte man ein Fleischläppchen oder eine Kartoffelscheibe, so trat das Phänomen sofort in Erscheinung. Ebenso war das der Fall auf feuchtem Agar, oder überhaupt auf allen Nährböden. Wenn es sich tatsächlich um ein Hungerstadium handeln würde, dann müßte doch die Eroberung eines begrenzten Areals genügen. Dies ist aber keineswegs der Fall, denn

das Schwärmen horte nicht eher auf, bis alles überwachsen war. Dabei kam es nie zu einer Zonenbildung, vorausgesetzt, daß das betreffende Nährmedium genugend Feuchtigkeit enthielt. — Nach meiner Ansicht dient das Schwärmen der Vermehrung und Nahrungssicherung. So kann man auch die Bedeutung des Bakteriums als Fäulniserreger verstehen, denn durch seine schnelle Verbreitung wird die Zersetzung toter organischer Substanz stark beschleunigt.

6. Physiologische Eigenschaften von Bact. vulgare.

Im Gegensatz zur Morphologie ließ die Physiologie eine Trennung der einzelnen Stämme zu. Diese konnen in drei Gruppen eingeteilt werden.

Gruppe I. Hierzu gehorten Stamm 1, 2, 6, 7, 8 und 9. Bei diesen war die Indolreaktion stark positiv. Bevor die Proteolyse bei der Milch einsetzte, wurde diese durch Labenzym dickgelegt. Alle Stämme zeigten einen kräftigen Kaseinabbau, aber eine sehr schwache Fettspaltung. Gelatine wurde sofort und schnell verflüssigt. In ihren sonstigen Eigenschaften glichen sie den Gruppen II und III.

Nach der oben angeführten Methode wurden folgende Zucker angegriffen: Dextrin, Raffinose, Glykogen, Saccharose, Maltose, Dextrose, Lävulose, Mannit, Sorbit, Rhamnose, Arabinose, Salizin und Glyzerin. Nicht angegriffen wurden Stärke und Laktose.

Gruppe II. Sie umfaßte die Stämme 3, 10, 11, 12 und 15. Der einzige Unterschied zu Gruppe I war, daß sie kein Indol bildeten.

Folgende Zucker wurden vergoren: Dextrin, Raffinose, Glykogen, Saccharose, Maltose, Dextrose, Lävulose, Mannit, Rhamnose, Arabinose, Sorbit, Salizin und Glyzerin. Nicht angegriffen wurden Stärke und Laktose.

Gruppe III. Die hier angeführten Stämme, nämlich 4, 5, 13, 14 und 16 waren schlechte Gelatineverflüssiger. Sie koagulierten die Milch nicht. Diese blieb weiß, änderte sich aber im Geschmack und Geruch. Der Kaseinabbau war ebenso schlecht wie die Gelatineverflüssigung. Stamm 16 baute Kasein kaum ab und verflüssigte keine Gelatine. Sein Wachstumsoptimum lag bei 37°. Morphologisch unterschied er sich nicht von den anderen Stämmen.

Methodik. Der Nachweis der Gelatineverflüssigung, Indolbildung, des Kaseinabbaus, der Fettspaltung und der Verträglichkeit von Kochsalz geschah nach den bekannten Methoden. Nachweis der Zuckervergärung: 2 ccm einer 1 proz. Kohlehydratlösung wurden mit 1 ccm Bakterienaufschwemmung gemischt und bei 37° bis 24 Std. bebrütet. Die Zuckerlösung war mit einem 1 mol. Phosphatgemisch gepuffert ($p_H = 7$). Die gebildete Säure wurde mit einer 1/10 n NaOH-Lösung titriert.

Die Gruppe III ähnelte in vielem dem Bact. Zopfii. Henneberg (2) erwähnte diese Tatsache in seiner Broschüre: „Zur Kenntnis der Alkalibildner in der Milch". Er fand einen Stamm, der die Milch nicht dicklegte, sie nur schwach peptonisierte, die Milchfarbe kaum veränderte, sehr wenig Gelatine verflüssigte und kein Fett spaltete. Dieser Stamm vertrug 15% NaCl.

Tab. 2 gibt eine Gesamtubersicht über die physiologischen Merkmale aller drei Gruppen. Sämtliche Stämme bildeten H_2S, NH_3 und NO_2 aus NO_3, ebenso war die Katalase und Reduktasebildung bei den einzelnen ziemlich regelmäßig. Die optimale Temperatur lag bei 30°, eine Ausnahme bildete Stamm 16 mit 37°.

Tabelle 2.

	Gelatineverflussigung	Indol	Milch koaguliert	Milch peptonisiert	Fettspaltung	NaCl-verträglichkeit %	H_2S-Bildung	NH_3-Bildung	NO_2 aus NO_3	Reduktase-Zeit Std	Katalase	Optimaltemperaturen ° C
Gruppe I.												
Stamm 1	(+)	—	—	—	(+)	8	+	+	+	3¾	++	30
„ 2	++	—	—	—	(+)	10	+	+	+	4	+	30
„ 6	++	—	—	—	(+)	10	—	+	+	4¼	+	30
„ 7	(+)	+	—	—	(—)	6	—	+	+	4	+	30
„ 8	++	+	—	—	(+)	10	—	+	+	3¾	—	30
„ 9	++	—	—	+	(—)	12	+	+	+	5	(+)	30
Gruppe II.												
Stamm 3	++	—	—	—	—	8	+	+	+	4½	+	30
„ 10	(+)	—	+	—	—	10	—	+	+	4½	++	30
„ 11	(+)	—	+	—	(+)	8	+	+	+	4¼	++	30
„ 12	(+)	—	+	—	—	10	+	+	+	5	++	30
„ 15	++	—	—	—	—	12	+	+	+	3¾	++	30
Gruppe III.												
Stamm 4	((+))	+	—	+	(+)	7	+	+	+	4	+	30
„ 5	((+))	—	—	—	—	7	+	+	+	3¼	(+)	30
„ 13	((+))	—	—	+	—	12	+	+	+	3¼	+	30
„ 14	((+))	+	—	+	++	10	+	+	+	5	+	30
„ 16	(((+)))	—	—	+	—	13	+	+	+	5¼	(+)	37

+ = gutes Wachstum; ++ = sehr gutes Wachstum; (+) = schlechtes Wachstum; ((+)) = sehr schlechtes Wachstum; (((+))) =

7. Wachstum auf und in verschiedenen Nährmedien.

Bact. vulgare ist fakultativ aerob, d. h. es wächst bei Luftzutritt ebensogut, wie bei Luftabschluß. Seine Nahrungsansprüche waren gering und jeder Nährboden ließ ein gutes Wachstum zu. Selbst Wasseragar mit 1% Peptonzusatz bot noch Entwicklungsmöglichkeiten, allerdings trat das Schwärmen nicht mehr in Erscheinung. Sein Wachstumsoptimum lag auf festen, wie in flüssigen Medien bei 30°. Bei 37° war es noch recht gut, dagegen bei 45° nur spärlich. Temperaturen unter 30° waren sehr günstig. Bis zu 10° war eine gute Entwicklung zu beobachten, sank die Temperatur aber unter 10°, dann hörte das Wachstum bald auf.

Im Gelatinestich wuchs Bact. vulgare anfangs fadenförmig. Die Oberfläche sank bald napfförmig ein und vertiefte sich schlauchartig. Die Verflüssigung setzte sich darauf zylindrisch fort. Die zersetzte Gelatine war trübe und wolkenartig, der Bodensatz weiß und bestand aus Bakterien. Geruch und Geschmack der Gelatine waren faulig und bitter. Auf der Agarplatte wuchs Bact. vulgare sehr gut und bedeckte die Oberfläche mit einer dünnen grauen Schicht, die nach einigen Tagen weißlich wurde. Bouillon wurde zunächst stark getrübt, hellte dann aber wieder auf. Die Bakterien hatten sich auf dem Boden abgesetzt und bildeten dort eine dicke weiße Schicht. Chinablau-Milchzuckeragar und -Traubenzuckeragar wurden aufgehellt. Sehr schlechtes Wachstum zeigte sich auf Würzeagar und in Würze. Diese beiden Nährmedien waren für eine Isolierung und Fortzucht nicht geeignet. Als bester Nährboden für diese Zwecke erwies sich Kunze-Agar.

Hitzeresistenz.

Bei der Pasteurisierung wird Bact. vulgare in kürzester Zeit abgetötet. Nachstehend sind einige Abtötungstemperaturen wiedergegeben.

Abtotungstemperaturen:
bei 54° in 25—35 Minuten,
„ 56° „ 5—10 „
„ 60° „ $^1/_1$—½ Minute,
„ 63—65° sofort nach Erreichung dieser Temperaturen.

D. Bact. vulgare in der Milch.

1. Symbioseversuche zwischen Milchsäurebakterien und Bact. vulgare.

Methodik. Mischkulturen mit Bact. vulgare und Milchsäurebakterien in Milch wurden bei 20, 15, 13, 10 und 4° bebrütet und nach verschiedenen Zeiten Keimzählungen gemacht. Als Nährboden diente Chinablau-Milchzuckerbouillon und Wasseragar mit 3% Peptonzusatz. Der Säuregrad wurde nach Sh. bestimmt.

Bei der Nachprüfung dieser Untersuchungen von Luxwolda (31) wurden gleiche Resultate erzielt. Temperaturen über 20° ergaben eine vollständige Verdrängung des Bact. vulgare; wichtig waren für die Untersuchungen nur solche, die man teilweise schon als Kühlungsgrade bezeichnet, also alle unter 20° C.

Nach 60 Std. war die Milch geronnen, der Geschmack und der Geruch angenehm sauer. Die Milchsäurebakterien gewannen sehr schnell die Oberhand. Der Säuregrad betrug zum Schluß 13,9 Sh.

Mischkultur bei 20° C.

Zeit	Milchsäure-bakterien	Bact. vulgare
Zu Anfang	1 200	3 600
Nach 12 Stunden	16 000	5 600
„ 24 „	11 200 000	3 200 000
„ 36 „	58 000 000	9 500 000
„ 48 „	104 000 000	33 000 000
„ 60 „	205 000 000	38 000 000

Mischkultur bei 15° C.

Zeit	Milchsäure-bakterien	Bact. vulgare
Zu Anfang	3 200	3 600
Nach 12 Stunden	8 000	5 600
„ 2 · 24 Stunden . . .	850 000	100 000
„ 3 · 24 „ . . .	2 400 000	9 500 000
„ 4 · 24 „ . . .	24 000 000	13 000 000
„ 6 · 24 „ . . .	153 000 000	15 000 000
„ 7 · 24 „ . . .	1 200 000 000	5 500 000

Bei dieser Temperatur überwog Bact. vulgare nach 3 Tagen, wurde aber nach weiteren 24 Std. von den Milchsäurebakterien überwachsen. Am 6. Tage hatte die Vermehrung von Bact. vulgare den höchsten Wert erreicht, wogegen die Milchsäurebakterien noch im Ansteigen begriffen waren. Nach 7 Tagen war die Milch dickgelegt, Geschmack und Geruch angenehm sauer. Es zeigte sich, daß schon bei dieser Temperatur die Vermehrungsgeschwindigkeit gesunken war.

Bei 13° trat keine Gerinnung der Milch mehr ein. Der Geschmack war zwar sauer, aber etwas seifig und die Vermehrungsgeschwindigkeit noch weiter gesunken, doch erreichten beide Bakterien nach 10 Tagen denselben Wert.

Der Säuregrad betrug nach 11 Tagen 9,9 Sh.

Mischkultur bei 13° C.

Zeit	Milchsäure-bakterien	Bact. vulgare
Zu Anfang	6 000	6 400
Nach 24 Stunden	7 800	4 700
„ 2 · 24 „ . . .	55 200	82 000
„ 3 · 24 „ . . .	217 000	910 000
„ 4 · 24 „ . . .	480 000	20 000 000
„ 5 · 24 „ . . .	16 000 000	34 000 000
„ 6 · 24 „ . . .	9 000 000	66 000 000
„ 7 · 24 „ . . .	307 000 000	140 000 000
„ 8 · 24 „ . . .	254 000 000	270 000 000
„ 9 · 24 „ . . .	160 000 000	260 000 000
„ 10 · 24 „ . . .	260 000 000	246 000 000
„ 11 · 24 „ . . .	220 000 000	164 000 000

Die hemmende Wirkung der Temperatur trat immer mehr in Erscheinung. Hier gelang es den Milchsäurebakterien nach 11 Tagen die Übermacht zu behaupten. In den ersten Tagen war die Vermehrung beider Bakterien sehr schlecht, doch nach der Gewöhnung an die tiefe Temperatur setzte das Wachstum sofort kräftig ein.

Auch bei 10° änderte sich das Bild kaum, die Vermehrung begann erst nach 6 Tagen. Nach 20 Tagen war die Milch nicht geronnen. Aeußerlich schien sie einwandfrei zu sein, jedoch der seifige Geschmack bewies das Gegenteil. Nach 16 Tagen hatte die Milch einen Säuregrad von 6,6 Sh. Bis zu diesem Tage befand sich Bact. vulgare in der Überzahl, dann überwogen wieder die Milchsäurebakterien.

Mischkultur bei 10° C.

Zeit	Milchsäurebakterien	Bact. vulgare
Zu Anfang	3 800	1 400
Nach 2 · 24 Stunden .	1 000	6 000
,, 4 · 24 ,, .	4 600	86 000
,, 6 · 24 ,, .	118 000	360 000
,, 8 · 24 ,, . .	290 000	3 800 000
,, 10 · 24 ,, . .	667 000	5 500 000
,, 12 · 24 ,, . . .	1 120 000	39 000 000
,, 14 · 24 ,, . .	6 600 000	128 000 000
,, 16 · 24 ,, . . .	97 000 000	140 000 000
,, 18 · 24 ,, . . .	220 000 000	20 000 000
,, 20 · 24 ,, . . .	280 000 000	80 000 000

Bei Temperaturen unter 10° ging die Entwicklung immer mehr zurück. Die Milch wurde kaum verändert und selbst nach 24 Tagen bei 4° war der Geschmack normal.

Mischkultur bei 4° C.

Zeit	Milchsäurebakterien	Bact. vulgare
Zu Anfang	1 300	1 200
Nach 2. 24 Stunden .	800	900
,, 4. 24 ,, . . .	1 200	2 500
,, 6. 24 ,, . . .	8 200	4 300
,, 10. 24 ,, . . .	11 600	1 600
,, 12. 24 ,, . . .	10 800	8 600
,, 14. 24 ,, . . .	54 000	7 500
,, 16. 24 ,, . . .	81 000	12 000
,, 18. 24 ,, . . .	512 000	14 000
,, 20. 24 ,, . . .	817 000	17 000

Aus den Versuchen ging hervor, daß eine Kühlung von Frischmilch bei 10° und höher nicht für längere Zeit ausreichte, um das Aufkommen von Bact. vulgare zu verhindern. Erst bei Temperaturen unter 10° trat eine wirkliche Wachstumshemmung ein. Aber nicht nur für das Bact. vulgare galt dies, sondern, wenn auch nicht so stark, für die Milchsäurebakterien.

2. Vorkommen und Verhalten des Bact. vulgare in Milch.

Es wurde gezeigt (Tab. 1), daß das Bakterium in der warmen Jahreszeit selten in der Milch zu finden war, da es durch die Säuerung der Milchsäurebakterien in seinem Wachstum gehemmt wurde. Andererseits waren die Infektionsmöglichkeiten auch nicht so groß, wie im Winter. Die Stall- oder Wintermilch war sehr oft durch das Bakterium infiziert, und zwar durch Heu, Stroh, Kot, unsaubere Kannen usw. Eine Isolierung im Sommer erwies sich daher immer schwierig, und man mußte viele Proben untersuchen, bis diese gelang. Im Winter genügten dafür einige Milchen verschiedener Betriebe.

Beimpfte man sterile Milch mit *Bact. vulgare*, so wurde sie von einigen Stämmen durch Labenzym dickgelegt und dann peptonisiert. Andere Stämme zersetzten sie gleich, ohne sie erst zu koagulieren. Das Kasein wurde in der Regel stark abgebaut, das Fett dagegen kaum oder nur spurenweise. Nach Taylor (25) geht der Kaseinabbau über folgende Zwischenstufen:

Kasein
- Eiweiß
  - Albumosen
    - Peptone
      - Hexonbasen
        - Aminosauren
- Eiweiß
  - Albumosen
    - Peptone
      - Hexonbasen
        - Aminosauren
- Pseudonuclein

Eine beimpfte Milch zeigte schon nach kurzer Zeit eine Veränderung. Die weiße Farbe ging in ein schmutziges Gelb über, der Geschmack wurde seifig und bitter und der Geruch faulig. Ein Vierteljahr alte Milchkulturen bestanden aus einer völlig zersetzten schleimigen Masse, die widerlich roch. Betrachtete man etwas davon im Mikroskop, so sah man lauter kleine Stäbchen nebeneinanderliegen, die sich alle mit einer dicken Schleimschicht umgeben hatten. Bei allen zeigte sich keine Bewegung mehr. Daß die Zellen aber keineswegs abgestorben waren, konnte durch Überimpfen auf Agar festgestellt werden, wo sich bald ein Schwärmrasen gebildet hatte.

Die einzelnen Stämme unterschieden sich in der Schnelligkeit, mit der sie die Milch abbauten, wesentlich. Diejenigen, die die Milch erst koagulierten, zersetzten sie am schnellsten. Weit langsamer ging der Abbau bei den übrigen Arten. Es hatte den Anschein, als ob dieser gar nicht einsetzte, denn die Farbe der Milch veränderte sich kaum. Allein der Geruch und Geschmack bewiesen das Gegenteil. Erst nach Wochen wurden die Milchen aufgehellt und zeigten die typische gelbe Farbe des Kaseinabbaues. Das Verhalten der Stämme in Voll- und Magermilch unterschied sich nur durch die alkalische Reaktion der letzteren, während die erstere neutrale p_H-Werte zeigte. Magermilchen, die unter Luftabschluß bebrütet wurden, reagierten stark alkalisch.

Änderung des p_H-Wertes von beimpften Vollmilchen.

16 Stämme wurden in Vollmilch geimpft und bei 30° bebrutet. Nach je 24 Std. wurden dabei Proben entnommen und der p_H-Wert dieser festgestellt. Die Tab. 3 gibt die gemessenen p_H-Werte fur die Dauer von 10 Tagen wieder. In den ersten Tagen anderte er sich kaum, eine Veranderung der Milchen war ebenfalls nicht eingetreten. Am 5. Tag hatten Stamm 1, 2, 3, 7, 8, 9 und 12 die Milch koaguliert, Stamm 10 erst am 6. Tag und Stamm 11 nach 10 Tagen. Während dieses Stadiums lagen die p_H-Werte im alkalischen Gebiet. Das Koagulum war weich und zeigte einen glatten Bruch. Der Geschmack war angenehm sauer, ebenfalls der Geruch. Alle diese Stämme losten das Koagulum wieder auf und begannen es dann abzubauen. Von jetzt ab sank der p_H-Wert ungefähr auf den Neutralpunkt und von da ab trat keine wesentliche Änderung mehr ein. Der Abbau setzte nun sehr schnell ein. Am Boden des Gefäßes lagerte sich eine körnige, weiße Masse ab, die im Laufe der Zeit auch langsam verschwand. Die Milch hellte sich auf und wurde beinah durchsichtig. Die Fettschicht war scheinbar unverändert. Selbst bei ¼ Jahr alten Kulturen war sie erhalten geblieben. Die Stamme 4, 5, 6, 13, 14, 15 und 16 erreichten am 5. Tag auch alkalische p_H-Werte, legten die Milch aber nicht dick. Wie schon erwähnt, ging die Peptonisierung der Milch bei diesen sehr langsam vor sich.

Tabelle 3.
p_H-Messungen der Vollmilchkulturen. Dauer 10 Tage.

Stamm	1. Tag	2. Tag	3. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
1	6,45	6,5	6,35	**6,9**	7,0	6,75	6,63	6,68	6,76
2	6,45	6,57	6,3	**7,42**	6,4	6,4	6,55	6,55	6,3
3	6,45	6,66	6,7	**6,7**	6,9	6,8	6,65	6,73	6,88
4	6,45	6,33	6,7	6,55	6,8	6,44	6,4	6,42	6,38
5	6,45	6,4	6,4	6,9	6,7	6,44	6,5	6,5	6,4
6	6,45	6,71	6,5	6,7	6,65	6,6	6,56	6,52	6,52
7	6,45	6,75	6,62	**6,68**	6,65	6,55	6,5	6,45	6,5
8	6,45	6,6	6,68	**7,3**	7,0	6,6	6,5	6,6	6,58
9	6,45	6,5	6,2	**6,9**	6,75	6,5	6,5	6,54	6,57
10	6,45	6,6	6,35	6,85	**7,1**	6,45	6,64	6,6	6,8
11	6,45	6,64	6,45	6,5	6,38	6,5	6,5	6,58	**6,7**
12	6,45	6,65	6,5	**6,9**	6,65	6,62	6,68	6,72	6,8
13	6,45	6,5	6,65	6,7	6,75	6,65	6,52	6,82	6,8
14	6,45	6,5	6,45	6,3	6,4	6,07	6,0	6,3	6,1
15	6,45	6,8	6,44	6,9	6,8	6,7	6,55	6,78	6,8
16	6,45	6,7	6,47	6,85	6,6	6,75	6,55	6,76	6,7

In **Fettdruck** bedeutet Gerinnung der Milch.

Die p_H-Messungen nach 13-tägigem Wachstum zeigten, daß alle Milchen neutral oder schwach sauer reagierten.

p_H-Messungen derselben Milchen nach 24 Tagen zeigten, daß eine weitere Verschiebung nach der sauren Seite hin stattgefunden hatte. Alle reagierten sauer. Die Stämme, die die Milch äußerlich nach 13 Tagen noch nicht verändert hatten, verhielten sich nach 24 Tagen noch ebenso. In erster Linie war dies der Stamm 16. Der Geschmack dieser Milch war nur leicht bitter.

Nach 13 Tagen.

Stamm	p_H	Zustand der Milch
1	6,55	Milch zersetzt, gelb
2	6,65	,, ,, , ,,
3	6,63	,, ,, , ,,
4	6,4	Milch weiß, Geschmack bitter
5	6,4	,, ,, , ,, ,,
6	6,6	Milch zersetzt, gelb
7	6,54	,, ,, , ,,
8	5,00	,, ,, , ,,
9	6,55	,, ,, , ,,
10	6,6	,, ,, , ,,
11	6,55	,, ,, , ,,
12	6,6	,, ,, , ,,
13	6,7	Milch weiß, Geschmack bitter
14	6,4	Milch zersetzt, gelb
15	6,2	,, ,, , ,,
16	6,6	Milch weiß, Geschmack leicht bitter

Änderung des p_H-Wertes von beimpften Magermilchen.

Ebenso wie in Vollmilch wurden auch die p_H-Veränderungen der einzelnen Stämme in Magermilch gemessen (siehe Tab. 4).

Tabelle 4.

p_H-Messungen der Magermilchkulturen. Dauer 10 Tage.

Stamm	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	9. Tag	10. Tag
1	6,35	6,9	6,45	6,3	6,3	**6,6**	6,55	6,5	6,8
2	6,35	6,8	6,5	6,3	6,45	**6,55**	6,45	6,45	6,55
3	6,35	6,75	7,05	6,4	6,4	**6,3**	6,35	6,36	6,45
4	6,35	7,1	6,1	6,0	6,1	6,15	6,05	6,01	6,15
5	6,35	6,81	6,15	6,0	6,0	6,15	6,06	6,05	6,3
6	6,35	7,0	6,7	6,45	6,35	**6,65**	6,64	6,6	6,71
7	6,357	7,0	6,35	6,05	6,2	6,35	6,2	6,2	6,32
8	6,35	6,95	6,85	6,55	6,6	**6,75**	6,6	6,95	7,3
9	6,35	7,0	6,6	6,25	6,35	**6,4**	6,3	6,35	6,6
10	6,35	6,75	6,85	6,4	6,35	6,35	**6,4**	6,4	6,7
11	6,35	6,8	6,7	6,3	6,4	6,55	**6,65**	6,4	6,5
12	6,35	6,4	6,9	6,45	6,45	6,45	**6,6**	6,65	6,8
13	6,35	7,1	6,8	6,45	6,45	6,45	6,45	6,5	6,8
14	6,356	6,9	6,6	6,2	6,25	6,3	6,35	6,2	6,3
15	6,35	6,8	6,65	6,4	6,35	6,35	6,25	6,3	6,7
16	6,35	7,05	6,65	6,4	6,3	6,34	6,15	6,4	6,8

In **Fettdruck** bedeutet Gerinnung der Milch.

Schon nach 24 Std. machte sich ein Anstieg der p_H-Werte bemerkbar, alle Milchproben reagierten alkalisch. Der p_H-Wert war am 4. und 5. Tag ins saure Gebiet gesunken, stieg aber mit dem Erreichen des 6. und 7. Tages wieder. Zu dieser Zeit koagulierten Stamm 1, 2, 3, 6, 8, 9, 10, 11 und 12 die Milch. Bei der Vollmilch kamen ungefähr die gleichen Werte bei der Dicklegung vor. Das Koagulum war am folgenden Tag wieder aufgelöst und zersetzt. Am 10. Tag lagen die p_H-Werte bei den meisten Milchen im alka-

lischen Gebiet, nur wenige zeigten eine saure Reaktion. Stamm 6 legte Vollmilch nicht dick, wohl aber Magermilch. Dieser war der einzige der 16 Stamme, der ein unterschiedliches Verhalten in beiden Milchen zeigte. Auch hier bauten die labbildenden Stamme die Milch wesentlich schneller ab; die Farbe wurde gelb und am Boden setzte sich ein korniger weißer Belag ab. Der Geruch war faulig und erinnerte an Trimethylamin. Ein sehr schlechtes Abbauvermogen zeigte auch hier der Stamm 16, der nach 24 Tagen die Milch kaum verandert hatte, Geschmack und Geruch waren nicht wesentlich verandert.

Die Milchen zeigten nach 13 Tagen folgendes Bild

Stamm	p_H	Zustand der Milch
1	6,98	Milch zersetzt, gelb
2	6,9	" " , "
3	7 7	" " , "
4	6,45	Milch weiß, Geschmack bitter
5	6,3	" " , " "
6	6,9	Milch zersetzt, gelb
7	6 55	" " , "
8	6,86	" " , "
9	7	Milch ist geronnen
10	6,95	Milch zersetzt, gelb
11	7,15	" " , "
12	7	" " , "
13	7	Milch weiß, Geschmack bitter
14	6,6	Milch zersetzt, gelb
15	6,95	Milch unzersetzt, weiß
16	6,6	Milch weiß, Geschmack leicht bitter

Stamm 15 zersetzte die Vollmilch nach 13 Tagen, die Magermilch war nach derselben Zeit weiß, der Geruch aber faulig. Stamm 9 hatte nach 13 Tagen die Magermilch dickgelegt, Vollmilch nicht. Es scheint sich um Variationen der physiologischen Eigenschaften zu handeln. Man konnte sie nur sehr selten beobachten. Wiederholungen des Versuchs ergaben keine Erklarung dafur. Der p_H-Wert der Magermilchproben war nach 24 Tagen ohne Ausnahme alkalisch.

Anaerobes Wachstum in Magermilch.

Eigentliche Unterschiede zum aeroben Wachstum traten nicht auf. Die Einlabung setzte schon nach 4 Tagen ein, das Koagulum war aber nach 24 Std. wieder aufgelost. Auch hier setzte dann der Abbau sofort ein. Der p_H-Wert zur Zeit der Gerinnung war schwach alkalisch, ein Zeichen dafur, daß schon vorher ein Abbau stattgefunden hatte. Er sank mit der Verflussigung des Koagulums und lag wenig uber oder unter dem Neutralpunkt. Nach ungefahr 10 Tagen war er wieder schwach alkalisch.

Aminostickstoffbestimmung.

Eine Aminostickstoffbestimmung von 2 Kulturen, die bei 15° bebrutet worden waren (Methode von van Slyke), zeigte einen sehr hohen Wert.

Kultur I	2,506 mg
Kultur II	2,620 mg

3. Bact. vulgare in Kase.

I. Kaseuntersuchungen.

Methodik der Kaseuntersuchung 1 g des zu untersuchenden Kases wurde in $^1/_{10}$ n Natronlauge gelost und dann mit Wasser verdunnt Mittels der Verdunnungsmethode nach Demeter wurden Verdunnungen von 10^{-2} bis 10^{-9} hergestellt Als Nahrmedien fur die Anreicherungen dienten Lackmusmilch und 3% Peptonwasser Die beimpfte Lackmusmilch wurde mit flussigem Paraffin uberschichtet, damit keine Faulnisbildner aufkommen konnten Diese Titerbestimmung ergab das Verhaltnis der Milchsaurebakterien zu Faulnisbildnern im Kase

Aus einer Anzahl untersuchter Weichkase mogen folgende 2 typischen Beispiele erwahnt sein:

Kase I stammte aus einer Kasegroßhandlung. Er hatte dort nur kurze Zeit nach der Anlieferung bei 18° C gelagert. Der Kase zeigte ein gutes Aussehen, Geruch und Geschmack waren einwandfrei. Die Titerbestimmung ergab, daß Lackmusmilch bis zur Verdunnung 10^{-7} nach 12 Std. bei 37° dickgelegt war. Das Peptonwasser war bis 10^{-3} nach 12 Std. bei 30° trube. Aus dieser Anreicherung ließ sich das Bact. vulgare isolieren. Der p_H-Wert des Kases betrug 5,3.

Mikroskopisch ließen sich in Lackmusmilch Streptokokken und Streptobakterien, in Peptonwasser kurze, bewegliche Stäbchenformen nachweisen.

Kase II stammte aus einem großen Warenhaus und hatte dort langere Zeit gelegen. Der Kase war weich und hatte eine schmutzig-gelbliche Farbe. Der Geschmack war sehr bitter und der Geruch faulig. Die Titerbestimmung ergab fur Milchsaurebakterien eine Verdunnung bis 10^{-4}. Das Peptonwasser zeigte noch bei 10^{-8} schwache Trubung. Der p_H-Wert betrug 6,9. Das mikroskopische Bild stimmte mit dem des Kases I uberein.

Diese beiden Beispiele zeigten, daß das Bakterium ein häufiger Bewohner des Weichkäses war und die meisten der untersuchten Weichkase waren damit infiziert. Im Harzer Kase waren diese Infektionen regelmäßig zu finden. Der Geruch dieses Kases ist schon bezeichnend fur die Anwesenheit des Bakteriums. In solchen, die aus hocherhitzter Milch hergestellt sind, findet man es nur selten, da es bei der Pasteurisierung abgetotet wird.

Von Hartkasen ist zur Hauptsache der Tilsiter auf Bact. vulgare untersucht worden. Nur mit wenigen Ausnahmen konnten keine Infektionen nachgewiesen werden. Wurde das Bakterium gefunden, dann immer in Symbiose mit Fluoreszenzen und Bact. alkaligenes. Diese Kase zeigten auf der Rinde grau-braun-gefarbte Stellen, die schleimig und glasig waren. Das Innere war meistens nicht in Mitleidenschaft gezogen, sondern diese Infektionsstellen waren nur auf die Rinde beschrankt. Gelang es dem Bakterium durch die Rinde ins Innere des Kases zu gelangen, dann veranderte sich der Geschmack sofort. Schon nach kurzer Zeit war der Käse nicht mehr genießbar.

Folgender Fall zeigte, daß der Genuß eines in Zersetzung begriffenen und stark mit Bact. vulgare infizierten Weichkases fur Menschen krankheitserregend wirken kann: Ein zur Untersuchung eingeschickter Weichkase, nach dessen Genuß eine Person schwer erkrankt war, war durch Bact. vulgare vollig zersetzt. Die Oberfläche war weich und zähflussig, der Kern brocklig. Milchsäurebakterien enthielt der Käse nur sehr wenig.

II. Herstellung von Weichkäsen aus Magermilch.

a) Käse, beimpft mit einer Aufschwemmung von Bact. vulgare und Milchsäurebakterien.

Methodik. Die Herstellung der Käse geschah nach dem gewöhnlichen Verfahren. Das Verhältnis der beiden Symbionten wurde nach der schon erwähnten Titermethode bestimmt.

Die Frage, ob Bact. vulgare in der Käserei als Schädling zu betrachten sei, schien bislang nicht geklärt zu sein. Aus diesem Grunde wurden Weichkäse hergestellt, die einmal mit einer Mischkultur von Bact. vulgare und Milchsäurebakterien, und zweitens nur mit einer Reinkultur von Bact. vulgare beimpft wurden. Beide Käse wurden nach der Fertigstellung mit einer Rotschmiere abgerieben und dann in einem Käseschrank zur Reifung gebracht. Nach 4, 8, 12, 16 und 20 Tagen wurden Proben genommen, die auf die Konsistenz der Käse und das Verhältnis der Milchsäurebakterien zu Bact. vulgare in ihnen untersucht wurden.

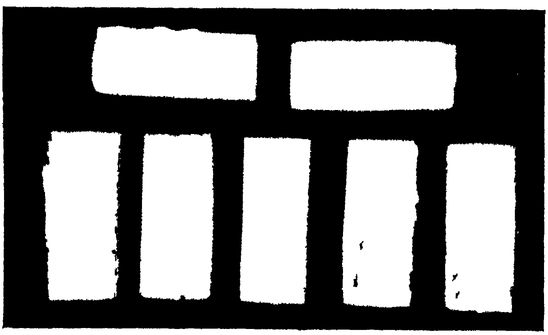


Abb. 7. Weichkäse vor der Infektion.

Tab. 5 zeigt die Verschiebung des Verhältnisses der beiden Symbionten, sowie die p_H-Messungen nach den schon angegebenen Zeitabschnitten.

Tabelle 5.
Käse mit Bact. vulgare und Milchsäurebakterien beimpft.

Zeit	Milchsäurebakterien	Bact. vulgare	p_H-Wert
Zu Anfang	10^{-9}	10^{-5}	6,0
Nach 4 Tagen	10^{-9}	10^{-5}	4,4
„ 8 „	10^{-8}	10^{-6}	5,2
„ 12 „	10^{-5}	10^{-6}	5,2
„ 16 „	10^{-5}	10^{-9}	5,6
„ 20 „	10^{-1}	10^{-10}	6,2

Am 1. Tag betrug das Verhältnis Milchsäurebakterien : Bact. vulgare = $10^{-9} : 10^{-4}$, der p_H-Wert 6,0. Nach 4 Tagen hatte sich äußerlich nichts an den Käsen geändert. Der p_H-Wert war aber auf 4,4 gesunken, ein Zeichen dafür, daß die Milchsäurebakterien stark gesäuert hatten. Eine Vermehrung hatte aber, wie die Titerbestimmung zeigte, nicht stattgefunden. Geruch und Geschmack des Käses waren gut. Am 8. Tag fing der p_H-Wert etwas an zu steigen, und zwar erreichte er den Wert von 5,2. Nun hatte sich auch das Verhältnis zugunsten des Bact. vulgare verschoben, denn die Milchsäurebakterien waren zahlenmäßig stark zurückgegangen, wie auch aus dem Ansteigen des p_H-Wertes zu schließen war. Die Käse hatten sich nicht verändert. Nach 12 Tagen begann das Innere gelblich zu werden,

der Geruch nach Trimethylamin war wahrzunehmen und der Geschmack war leicht bitter. Die Milchsaurebakterien waren weiter zuruckgegangen, der p_H-Wert blieb unverändert. Das Bact. vulgare entwickelte sich sehr stark, wie schon aus dem Geruch des Käses zu erkennen war. Die Zersetzung ging immer weiter und schon nach 16 Tagen begann sich die obere Schicht zu losen, d. h. sie trennte sich schalenförmig vom Kern ab. Letzterer war noch weiß, während alles andere schon schmutzigbraun geworden war. Das Bact. vulgare vermehrte sich sehr schnell und drängte die Milchsäurebakterien völlig zurück. Der p_H-Wert betrug 5,6. Nach 20 Tagen waren sämtliche Käse auseinandergelaufen. Alle stromten einen widerlichen Geruch aus und hatten einen sehr bitteren und seifigen Geschmack. Der Versuch zeigte, daß sich Bact. vulgare trotz Gegenwart großer Mengen Milchsäurebakterien gut in den Weichkäsen entwickeln konnte. Die Säuerung der Milchsäurebildner reichte nicht aus, um die Entwicklung zu hemmen.



Abb. 8. Weichkase am Tage nach der Infektion.



Abb. 9. Weichkase am Tage nach der Infektion.

b) Magermilchkäse, die nur mit Bact. vulgare beimpft waren.

Bei der Herstellung der Weichkäse ließ es sich nicht vermeiden, daß eine geringe Anzahl Milchsäurebakterien in die Milch und damit in den Käse gelangten. Ich mußte sie daher auch in der Titerbestimmung berücksichtigen.

Die Käse waren nur mit Bact. vulgare beimpft. Das Anfangsverhältnis zwischen den Milchsäurebakterien und Bact. vulgare betrug $10^{-2} : 10^{-6}$. Die ersteren vermehrten sich anfänglich schwach, gingen dann aber wieder zurück. Schon nach 8 Tagen fingen die Käse an abzufließen. Der Zersetzungsprozeß begann im ganzen Käse gleichzeitig, also nicht von außen nach innen, wie im Käse I. Geruch und Geschmack waren faulig und

Tabelle 6.
Käse nur mit Bact. vulgare beimpft.

Zeit	Milchsäurebakterien	Bact. vulgare	p_H-Wert
Zu Anfang	10^{-2}	10^{-6}	6,2
Nach 4 Tagen	10^{-3}	10^{-7}	5,4
„ 8 „	10^{-4}	10^{-8}	5,6
„ 12 „	10^{-4}	10^{-9}	6,1
„ 16 „	10^{-3}	10^{-10}	6,6

bitter. Nachdem anfänglich der p_H-Wert etwas ins saure Gebiet überschlug, betrug er schon nach 12 Tagen 6,1, nach 16 Tagen 6,6 und nach 24 Tagen 8,2.

Die Versuche beweisen eindeutig, daß Bact. vulgare als Schädling in der Käserei anzusehen ist. Es zeigte sich, daß die hemmende Wirkung der Milchsäurebakterien nicht ausreichte, um sein Aufkommen zu verhindern.

Wäre es dem Bakterium nicht gelungen, den Käse zum Abfließen zu bringen, so hätten doch schon kleine Mengen seiner Stoffwechselprodukte genügt, um den Geschmack stark zu beeinträchtigen. Die Eiweißstoffe wurden zu Aminosäuren, Trimethylamin und Ammoniak abgebaut. Durch diese stark basisch wirkenden Produkte wurde die gebildete Milchsäure neutralisiert, und verlor infolgedessen ihre hemmende Wirkung.

Durch die große Verbreitung des Bact. vulgare in der Natur ist es sehr schwer, sich vor seiner Infektion zu schützen, und nur allergrößte Sauberkeit bei der Herstellung der Weichkäse im besonderen, setzt seine schädigende Wirkung auf ein erträgliches Maß herab.

E. Bact. vulgare als Toxinbildner.

Die ersten Untersuchungen über pathogene Eigenschaften des Bact. vulgare veröffentlichte Hauser (1). Er impfte ein Kaninchen mit einer Jaucheflüssigkeit, die durch Zersetzung von Leberstückchen durch Bact. vulgare entstanden war. Nach etwa 1 Std. war das Tier eingegangen. Eine Vermehrung der Bakterien im Blut hatte nicht stattgefunden. Wiederholungen zeigten genau dasselbe Bild. Ähnliche Symptome traten nach einer Einspritzung einer verflüssigten Gelatinekultur auf, aber der Tod trat erst nach 24 Std. ein. Auch hier konnte Hauser keine Vermehrung im Blut feststellen. Er schloß aus diesen Befunden, daß das Bakterium selbst nicht giftig wirkte, sondern nur die von ihm beim Abbau der Nahrungsprodukte gebildeten Toxine. Bei einem Meerschwein fand er nach der Sektion in der Bauchhöhle eine braune Flüssigkeit, aus der er Bact. vulgare in Reinkultur züchten konnte. Dies gelang ihm ebenso aus dem Blutserum, wie auch aus den Magenflüssigkeiten. Sehr häufig beobachtete er, daß an der Injektionsstelle Eiterungen auftraten, die sehr schlecht verheilten. Kurz vor dem Eingehen der Versuchstiere traten starke Krämpfe auf. Hauser war der erste, der eine toxische Wirkung des Bakteriums nachwies.

Fast 13 Jahre später nahm Meyerhoff (10) die Untersuchungen Hausers (1) wieder auf. Er hatte das Bakterium fast überall gefunden, so z. B. in Brunnen-, Fluß- und Leitungswasser, hier allerdings selten, im Kot, Harn und in der Leiche. Meyerhof und Hauser bezeichneten das Bakterium als den eigentlichen Erreger der Leichenfäule.

Im menschlichen Körper tritt Bact. vulgare entweder als reiner Saprophyt oder als Parasit auf. Gefunden wurde er im menschlichen Verdauungstraktus ganz gesunder Menschen und auch in der Mundhöhle, aber ohne pathogene Wirkung. Von Reininfektionen durch das Bakterium bei Menschen hatte man nach Meyerhoff wenig gehört und aufgezählte Fälle sind mit großer Vorsicht aufzunehmen, da sie im Verhältnis zum allgemeinen Vorkommen des Erregers äußerst selten waren. Eine typische Bact. vulgare-Krankheit ist die Harncystitis. Schon durch einfaches Einführen in die Blase kann man sie erzeugen. Sehr oft ist bei diesen Harnkrankkrankheiten eine Mischinfektion von Bact. vulgare und Bact. coli beob-

achtet worden. Meyerhoff stellte 2 Theorien auf, nach der einen war Bact. vulgare ein reiner Saprophyt. Die in toten Substraten vorgebildeten toxischen Substanzen sollen dem menschlichen oder tierischen Korper Schaden bringen können, insofern als die Resistenz der lebenden Gewebe durch sie zunächst derartig herabgesetzt wird, daß das Bakterium sie nun unbeschadet angreifen und zerstören kann. Nach der anderen Theorie war das Bakterium ein reiner Parasit.

Versuche Meyerhoffs, Mäuse vom Darmkanal aus zu infizieren, verliefen negativ. Die Tiere sollen wochenlang mit hochvirulenten Bouillonkulturen oder mit faulem Herzfleisch von der Infektion erlegenen Kaninchen und Meerschweine gefüttert worden sein, ohne danach die geringsten Krankheitszeichen aufzuweisen. Nach vielen Versuchen kam Meyerhoff zu der Vorstellung, daß der Vorgang sich ungefähr so abspielen müsse: „Primar vermehren sich die Bakterien im Organismus und überschwemmen ihn, und die sekundäre Wirkung wäre die Bildung der Toxine, die die Organe schwer schädigen.“

Dieudonné (4) wies bei einer Massenvergiftung in einer Kaserne durch Genuß von Kartoffelsalat nach, daß es sich um eine Vergiftung durch Bact. vulgare handelte, die er durch Tierfütterungen beweisen konnte.

Henneberg (2) wies auf Tiervergiftungen durch Bact. vulgare durch verfütterte Kartoffeln hin. Es handelte sich in diesen Fällen immer um gekochte und dann gestampfte Kartoffeln, die längere Zeit warm in flachen Behältern gestanden hatten. In kurzer Zeit gingen selbst Pferde, die man mit diesem Brei gefüttert hatte, ein.

Folgende Vergiftungsfälle gelangten zu meiner Kenntnis:

Fall I. Bei den erkrankten Personen handelte es sich um folgendes klinisches Bild. Es sollen nach Genuß von Wurstchen mit Kartoffelsalat in mayonnaiseartiger Zubereitung plotzlich heftige Magen-Darmerscheinungen aufgetreten sein. Bei allen trat mit beginnender Erkrankung heftiges Erbrechen auf, dann anschließend ein kollapsartiger Zustand, so daß die Personen sich teilweise im Freien hingeworfen hatten. Klinisch wurden 80% der Erkrankten behandelt. Eigentliche Krämpfe sind nicht beobachtet worden, jedenfalls keine Extremitätenkrämpfe. Teilweise tauchten kolikartige Beschwerden im Unterleibe auf, die wohl durch die beschleunigte Peristaltik zu erklären sind. Fieber hatte scheinbar nicht bestanden, wie die ersten Untersuchungen zeigten. Sehr bald traten bei vielen Durchfälle ein. Der allgemeine Zustand besserte sich nach einer Magenspülung bei den meisten, doch hielt bei einigen ein gewisser Schwächezustand an.

Das Essen war sofort zur Untersuchung eingeschickt worden. Bei der Untersuchung der Speisen im Hygienischen Institut hatte man Bact. vulgare in größeren Mengen gefunden. Irgendwelche pathogenen Erreger waren nicht nachzuweisen. Die Möglichkeit, daß durch das auffallend starke Vorkommen von Bact. vulgare dieses Bakterium der Erreger der Vergiftung sein konnte, hatte man nicht berücksichtigt. Die Annahme, daß eine Schwermetallvergiftung vorliegen konnte, mußte fallengelassen werden, da in einem Nahrungsmittel-Untersuchungsamt, das ebenfalls die genossenen Speisen analysiert hatte, ungefährliche Dosen festgestellt wurden. Die Speisen bezeichnete man ebenfalls als einwandfrei. Meine Annahme, daß hier eine Vergiftung durch Bact. vulgare vorlag, wurde durch diese Befunde bestärkt. Leider gelang es mir nicht mehr, aus den Speiseresten, die schon ziemlich alt waren, einen Stamm zu isolieren. Doch läßt sich das vielleicht auf die starke Säuerung der Kartoffel zurückführen, die hemmend auf die Entwicklung gewirkt haben kann. Ich mußte mich daher auf die Angaben des Hygienischen Instituts verlassen.

Fall II. Dieser trug sich ungefähr zur selben Zeit zu. In einem Lager traten kurz nach dem Mittagessen die ersten Erkrankungen auf. Im Laufe des Nachmittags waren 70% der Besatzung erkrankt, weitere 5 Personen erst am folgenden Tag. Alle klagten über heftige Magen- und Darmschmerzen. Von der Gesamtbesatzung blieben nur 8 Personen gesund. Kritische Krankheitserscheinungen.

Schwindel, toxisches Erbrechen vom Typ des unstillbaren, nur leichte Temperatursteigerungen. Durchfälle zum Teil erst nachträglich.

Zur Untersuchung eingeschickt wurden: 1. Kartoffelsalat, 2. gekochte Mettwurst, 3. zwei mit Schweine- bzw. Rindermett- bzw. Braunschweigerwurst belegte Brote, 4. Bockwurst, 5. 1 Flasche Essig, 6. 1 Flasche Öl. Ferner Stuhl und Urinproben von Erkrankten und 1 Urinprobe von einem Erkrankten.

Untersuchungsergebnisse des Hygienischen Instituts.

In den obenerwähnten Nahrungsmitteln sowie in den Stuhl- und Urinproben konnten weder Typhusbazillen, noch Bakterien aus der Paratyphus-Enteritis-Gruppe nachgewiesen werden. Die Untersuchung auf anaerobe Giftbildner ergab ebenfalls ein negatives Ergebnis, desgleichen die entsprechenden Tierversuche.

Im Kartoffelsalat konnten Bact. coli und vulgare in auffallend reicher Menge festgestellt werden. Bact. vulgare wurde ferner im Stuhl und Urin von 3 Erkrankten, im Stuhl allein von 2 und im Urin allein von einem Erkrankten festgestellt.

Ob die Erkrankungen durch Bact. coli oder durch Bact. vulgare hervorgerufen worden waren, ließ sich nicht mit Sicherheit feststellen. Jedoch lag auf Grund der Untersuchungen der Verdacht vor, daß die Nahrungsmittelvergiftung durch den Genuß des bakteriell verunreinigten Kartoffelsalats zustande gekommen war.

Auszug aus dem Untersuchungsergebnis des chemischen Laboratoriums.

Von den genossenen Speisen waren Essig, Speiseöl, gekochte Mettwurst unverdächtig. Da der Kartoffelsalat in einem Kupferkessel gestanden hatte, wurde eine Bestimmung des Kupfergehalts vorgenommen. Sie ergab, daß der vorliegende Gehalt unterhalb der für Menschen toxisch wirkenden Dosis lag und somit nicht die Ursache der Vergiftung gewesen sein konnte.

Außer diesen beiden Fällen sei noch ein dritter mit Buttermilch erwähnt. Es stellte sich heraus, daß eine beanstandete Buttermilch, nach deren Genuß mehrere Personen unter heftigen Brechdurchfallserscheinungen erkrankt waren, durch Bact. coli und Bact. vulgare infiziert war. Zur Prüfung des Bact. vulgare auf seine Pathogenität wurden mehrere Tierversuche mit weißen Mäusen gemacht. Sie wurden mit infizierten Kuchenstückchen gefüttert und nach 24 Std. waren 2 von ihnen eingegangen. Bei der Sektion ergab sich, daß in verschiedenen Organen der betreffende Bact. vulgare-Stamm nachgewiesen werden konnte. So z. B. in Herz, Milz und Leber.

Eigene Untersuchungen.

Tierfütterungen mit infizierten Kartoffelscheiben.

Um die toxische Wirkung des Bakteriums nachzuweisen, wurden sterile Kartoffelscheiben mit Bact. vulgare beimpft. Die Scheiben wurden 12 Std. lang bei 30° bebrütet. Nach dieser Zeit war die Oberfläche mit einer hauchdünnen Bakterienschicht bedeckt. Der Geruch der Kartoffel veränderte sich in dieser Zeit kaum. Ich verfütterte sie an 2 Mäuse, die in 2 Käfigen untergebracht waren. Beide Tiere fraßen gleich davon und zeigten schon kurze Zeit darauf erste Krankheitssymptome. Doch am Abend hatten sie sich wieder erholt und fraßen erneut, und zwar von einer 24 Std. alten Kultur.

bei dieser war bereits ein fauliger Geruch bemerkbar. Am folgenden Tage waren beide Mäuse scheinbar gesund. Ich futterte sie nun einige Tage mit normalem Futter und dann wieder mit einer 36 stund. Kultur. Trotzdem beide große Mengen davon gefressen hatten, stellten sich keine Krankheitsanzeichen ein.

Ich wiederholte die Futterungen mit 2 anderen Mäusen, die zusammen in einem Käfig gehalten wurden. Nach dem Genuß einer 36stund. Kultur starben beide nach 24 Std. Eine Wiederholung der Futterungen mit 2 anderen Mäusen hatte das gleiche Ergebnis. Schon kurze Zeit, nachdem sie von der Kartoffel gefressen hatten, fingen die Tiere an unruhig zu werden und bald darauf schienen sich starke Schmerzen einzustellen. Die Augen schlossen sich, das Fell wurde struppig und die Mause reagierten nicht mehr auf schrille Gerausche. Um festzustellen, ob innerhalb der Organe eine Vermehrung der Bakterien stattgefunden hatte, wurden beide seziert. Es ergaben sich folgende Befunde:

Maus I: Anscheinend war hier der Tod einige Stunden fruher eingetreten als bei der zweiten. Die Lymphknoten zeigten eine starke Schwellung. Beim Öffnen der Bauchhohle trat ein brauner Saft heraus, der abscheulich stank. Das Innere war stark in Zersetzung begriffen. Etwas von dem braunen Sekret auf Platten ausgestrichen, ergab Bact. vulgare in Reinkultur. Von den Organen waren Milz und Leber übernatürlich groß.

Maus II: Diese war kurz vor der Sektion verendet. Die Bauchhöhle war durchaus normal, aber ebenso wie bei der ersten waren die Lymphknoten, die Leber und Milz stark geschwollen.

Positiven Befund zeigten folgende Organe:

Maus I		Maus II	
Herz	+	Herz	
Niere	+	Niere	+
Milz	+	Milz	+
Leber	+	Leber	+
Magen	+	Magen	

Auch ließ sich das Bakterium aus dem Kot zuchten. Diese Ergebnisse widersprechen denen Meyerhoffs (10), der bei seinen Tierfütterungen negative Resultate erzielte.

Durch infizierte Kartoffeln dürften auch die Vergiftungen in den Lägern zustande gekommen sein. Die Kartoffeln werden dort in großen Bottichen gekocht. Bevor mit dem Schälen begonnen werden kann, müssen sie erst auf Handwärme abgekühlt sein. Gewöhnlich werden mit dem Pellen mehrere Personen beauftragt.

Die Infektionen können aus der Luft oder von schmutzigen Händen herrühren. Da die Kartoffeln nach dem Pellen ungefähr 25° warm sein werden, der Wassergehalt sehr hoch und die Belüftung infolge der großen Oberfläche sehr gut ist — die Bottiche sind meistens niedrig und breit —, so sind die allergünstigsten Vermehrungsbedingungen für das Bakterium gegeben. Die Schwärmtätigkeit wird sofort beginnen und die Kartoffeln werden bald durchsetzt sein.

Allgemein wird angenommen, daß die Toxinbildung anfänglich sehr groß ist. Stehen die Bottiche längere Zeit, z. B. 5—6 Std. oder noch länger, dann können die gebildeten Toxinmengen für eine Vergiftung schon ausreichend sein.

Die Aufgabe der Mediziner ist es, sich mit dem Problem „der Infektion durch Bact. vulgare" weiter auseinanderzusetzen.

F. Zusammenfassung.

1. Der Infektionsgrad der Milch durch Bact. vulgare hängt von der Jahreszeit ab. Die Infektionsmöglichkeiten sind im Sommer geringer als im Winter, da eine Verschmutzung durch Futter, Kot oder Staub nicht so leicht gegeben ist. In den warmen Jahreszeiten sind die Entwicklungsbedingungen der Milchsäurebakterien sehr gut und durch die starke Säuerung wird Bact. vulgare in seinem Wachstum stark gehemmt.

2. Die von mir isolierten Stämme zeigen keine morphologischen Unterschiede. Physiologisch lassen sie sich in 3 Gruppen einteilen. Unterschiedliche Merkmale sind Indolbildung oder deren Fehlen, die Schnelligkeit der Gelatineverflüssigung und der Peptonisation der Milch. Bei der Pasteurisierung stirbt Bact. vulgare ab.

3. Die Untersuchungen über das Schwärmphänomen ergeben, daß auf frischen Nährböden und bei Temperaturen um 30° herum keine Ringbildung zustande kommt. Erst bei älteren Nährböden oder bei tieferen Temperaturen setzt sie ein.

4. Die Symbioseuntersuchungen zeigen, daß eine Kühlung bis zu 10° noch nicht ausreicht, um das Aufkommen des Bact. vulgare in der Milch zu verhindern. Erst unterhalb dieser Temperatur wird seine Entwicklung stark gehemmt. Die Säuerung durch die Milchsäurebakterien reicht bei 13° und 10° nicht mehr aus, um das Aufkommen des Bact. vulgare zu verhindern.

5. Die Milch wird sehr schnell verändert. Einige Stämme koagulieren sie erst und zersetzen sie dann, andere peptonisieren sie sofort. Fett wird kaum angegriffen. Die Farbe der Milch wird gelb, der Geschmack bitter und seifig, der Geruch faulig.

6. Weichkäse mit einer Mischkultur von Milchsäurebakterien und Bact. vulgare beimpft, wurden innerhalb von 24 Tagen völlig durch letzteren zersetzt. Solche, die nur mit Bact. vulgare beimpft waren, flossen schon nach 12 Tagen ab. Untersuchte Weichkäse zeigten in vielen Fällen Infektionen durch Bact. vulgare, das den Käse bei längerer Lagerung zum Abfließen brachte.

7. Es wird durch Tierversuche gezeigt, daß Bact. vulgare toxische Wirkungen hervorrufen kann.

Literaturübersicht.

1. Hauser, G., Über Fäulnisbakterien und deren Beziehung zur Septikamie. Leipzig 1885. — 2. Henneberg, W., Handbuch der Gärungsbakteriologie. Bd. 1. u. 2. Berlin (P. Parey) 1926. — 3. Weigmann, H., Handbuch der praktischen Käserei. Berlin (P. Parey) 1933. — 4. Lehmann, K. B. und Neumann, R. O., Bakteriologische Diagnostik. Bd. 2. München 1933. — 5. Bergey, D. H. Manuel of determinative Bacteriology. London (Bailliere, Tindall & Cox) 1934. — 6. Lieske, R., Allgemeine Bakterienkunde. Leizpig 1921. — 7. Ruß und Munzer, A., Über das Schwärmphänomen des Bact. Proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 133. 1935. — 8. Seifert, H., Das Schwärmphänomen des Bact. Proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 133. 1935.) — 9. Moltke, O., Untersuchungen über das Schwärmphänomen des Bac. Proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 111. 1929.) — 10. Meyerhoff, M., Über einige biologische und pathologische Eigenschaften des Bact. vulgare. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 2. 1898.) — 11. Braun, H. und Salomon, R., Das Verhältnis des Fleckfieberproteus zu den saprophytischen und parasitischen Proteusarten. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 81. 1920.) — 12. Kruse,

W., Allgemeine Mikrobiologie. Leipzig (Verl. Vogel) 1910. — 13. Migula, W., Spezielle Systematik der Bakterien. Bd. 2. Jena (Verlag G. Fischer) 1900. — 14. Bach, L., Untersuchungen uber die Saurefestigkeit von Proteusstammen. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 84. 1920.) — 15. Zweifel, E., Fleischuntersuchungen, Vergiftung durch Proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 58. 1911.) — 16. Klieneberger, H., Zur Differenzierung pathogener Proteusarten. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 58.) — 17. Hempt, H., Einfluß der Agar- und Gelatinekonzentration auf den Schwarmvorgang des Bac. Proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 126. 1932.) — 18. Kollaht, W. und Rittner, E., Eine einfache Methode, das Schwarmen des Proteus zu verhindern. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 132. 1935.) — 19. Sartorius, F. und Boediker, W., Uber Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und elektiver Schwärmhemmung. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 125. 1932.) — 20. Reichert, E., Geißel und Geißelbewegung. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 51. 1909.) — 21. Stigell, R., Über Bewegungskurven. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 45. 1908.) — 22. Herzfeld, E. und Klinger, R., Quantitative Untersuchungen uber den Indol- und Tryptophanumsatz bei Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 76. 1915.) — 23. Glenn, T. H., Variation and carbohydrate metabolism of bacilli of the Proteus group. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 58. 1911.) — 24. Kramer, G., Oxydations- und Reduktionswirkung des Bact. Proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 62. 1912.) — 25. Taylor, E. A., Uber Eiweißspaltungen der Bakterien. New York 1934. — 26. Reinmann, R., Untersuchungen uber das Ranzigwerden der Butter. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 6. 1900.) — 27. Harrison, F. C. und Comel, W. T., Vorkommen von Proteus in Milch und Kase. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 11 u. 12. 1904.) — 28. Heim, L., Zur Proteusdiagnose. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 70. 1913.) — 29. Cantu, L., Le Bacillus-Proteus; sa distribution dans la nature. (Ann. de Inst. Pasteur. T. 25. 1911.) — 30. Luxwolda, W. B., Antagonismus zwischen Milchsaurebakterien und Proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 31. 1912.) — 31. Zeiss, E., Sammelreferat mit 200 Literaturangaben. (Ergebn. d. Hyg. Bd. 5. 1922.) — 32. Meyerhoff, M., Sammelreferat. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 24. 1898.) — 33. Stork, W., Beitrag zur Kenntnis der Alkalibildner in Rohmilch. Diss. Kiel 1936. — 34. Hausam, W., Untersuchungen uber Bact. coli. Dissertation Kiel 1930.

Über die insektentötende Wirkung von Detal als Stäubemittel.

Von **H. Thiem**, Berlin-Dahlem.

Mit 1 Abbildung im Text.

Längere Zeit zurückliegende Laboratoriumsversuche, die ich mit Herrn Dr. R. Gerneck durchführte, bestätigten die bekannte Erscheinung, daß vollentwickelte Insekten, z. B. Kirschfruchtfliege, Pflaumensägewespe, nach kurzer Zeit zugrunde gehen, wenn sie sich auf Blätter von Pflanzen setzen, die kurz zuvor mit schwachen Derris- und Pyrethrum-haltigen Lösungen bespritzt worden sind. Da die Tiere die behandelten Blätter in der Hauptsache mit den Tarsen berührt hatten, war zu vermuten, daß die letale Wirkung des Mittels von den daselbst lokalisierten Nerven ausgeht. Gelangten die Versuche einen Tag nach der Behandlung der Pflanze zur Durchführung, so verlief die Vergiftung viel langsamer und insofern auch ungleichmäßiger, als ein Teil der Tiere am Leben blieb. Die tödliche oder lähmende Wirkung des Mittels blieb überhaupt aus, wenn die Insekten auf zwei Tage zuvor behandelte Blätter gesetzt wurden. Eine befriedigende Reaktivierung der beobachteten Wirkung des Mittels trat nach erfolgter wäßriger Benetzung der betreffenden Pflanze nicht ein; ein Zeichen dafür, daß sich das Insektizid zersetzt hatte. Die rasche Umsetzung des Mittels scheint auch der Haupt-

grund dafür zu sein, daß dieselben Lösungen gegen dieselben Versuchstiere zu verschiedenen Zeiten beträchtliche Wirkungsunterschiede zeigten.

Ähnliche Ergebnisse wurden bei Verwendung staubförmiger Präparate erhalten. Hier sei lediglich erwähnt, daß bei kräftiger oberflächlicher Bestäubung eines Sandbodens, dem zuvor in verschiedener Tiefe eine größere Anzahl von Puppen der Kirschfruchtfliege zugesetzt worden war, noch nach wochenlanger trockener Aufbewahrung im Laboratorium die daraus geschlüpften Fliegen eingingen, bevor sie sich ausfärbten. Wurde der eingestäubte Sand oberflächlich angenäßt, blieb diese Wirkung aus; die geschlüpften Fliegen verfärbten sich normal und blieben am Leben.

Auf Grund der Veröffentlichungen von Escherich und Frickhinger[1]) wurde das von der Firma E. Merck-Darmstadt hergestellte Dinitrokresol-haltige Stäubemittel Detal auf dieselbe Art und Weise geprüft. Auch hier zeigte sich dieselbe Erscheinung: Bei trockener Anwendung auf Sandboden gingen die aus den darin ausgelegten Puppen schlüpfenden Kirschfruchtfliegen vor erfolgter Ausfärbung zugrunde, bei nasser Anwendung gelangten sie zur normalen Entwicklung.

Diese Beobachtungen gaben Anlaß, die Wirkung des Detal an Ohrwürmern, die in beliebiger Anzahl zur Verfügung standen, näher zu untersuchen. Dabei stellte sich heraus, daß diese auffällig rasch zugrunde gingen, wenn sie veranlaßt wurden, für kurze Zeit über eine schwach bepuderte Fläche zu laufen. Unter denselben Versuchsbedingungen sind Ohrwürmer bei Anwendung von Lymantrin, einem von der Firma Borchers-Goslar hergestelltem Derris- und Pyrethrum-haltigen Stäubemittel, selbst nach 8 Tage langer Versuchsdauer am Leben geblieben. Die durch Detal eingegangenen Tiere werden alsbald steif und prall, sie gehen nach wenigen Tagen in Fäulnis über und riechen stark nach Aas.

Zahlreiche Wiederholungen der Versuche ergaben immer wieder dasselbe Bild; oft starben die Tiere, ohne sich von der Stelle bewegt oder ihr Aussehen verändert zu haben. Wurden die Versuchstiere durch Berühren zum Laufen veranlaßt, so zeigte sich, daß die Tarsalglieder steif geworden und schräg aufwärts gerichtet waren und daß zum Laufen die Tibien benutzt wurden. Ferner sind bei den eingegangenen Tieren die Beine nicht, wie es sonst bei vergifteten Insekten der Fall ist nach unten eingeschlagen und verkrampft gewesen, sondern behielten wenigstens teilweise ihre normale Haltung. Bei sehr oberflächlicher Betrachtung konnten solche Tiere für lebendig gehalten werden (Abb.).

Zur Veranschaulichung des Gesagten seien zunächst einige Hauptversuche in Kürze wiedergegeben. Vorweg ist zu betonen, daß die angeführten Zeiten keinen Schluß auf die kürzeste Zeit der Einwirkung des Mittels zulassen.

Kontrollversuche.

1. Vom 14. 9. ab wurden in Drahtbeutel eingezwingerte 15 Ohrwürmer in Petrischale unmittelbar neben angehäuftem Detal gehalten. Abbruch des Versuches am 5. Tag, da Tiere unbeeinflußt blieben.

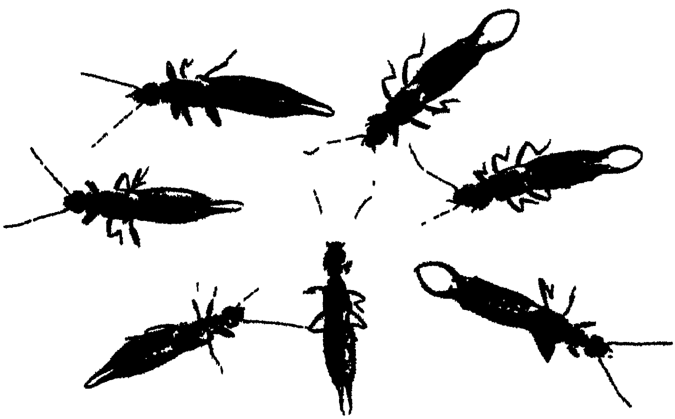
2. Am 14. 9. wurden 10 Ohrwürmer in ein an den Enden mit leicht durchlässigem Nesselstoff abgebundenes kurzes Glasröhrchen (Länge 5, ⌀ 2 cm)

[1]) Escherich, K., Silva. Bd. 24. 1936. S. 76. — Frickhinger, H. W., Der Sieg der Kontaktgifte in der Forstschädlingsbekämpfung. (Anz. f. Schädlingskunde. Bd. 12. 1936. S. 41.)

eingesperrt und zusammen mit einem offenen Glasnapf, der mit Detal bis obenhin angefüllt war, in einem weiten mit Korken gut verschlossenen größeren Glaszylinder (Länge 25, ⌀ 4,3 cm) gehalten. Abbruch des Versuchs am 18. 9., da keine nachhaltige Wirkung zu erkennen war.

3. Auf durchlässigem Nesselstoff, der über mit Detal kräftig behandeltem Sandboden gespannt war und sich intensiv gelb gefärbt hatte, wurden während mehrerer Tage unter Glasdeckeln eine Anzahl Ohrwürmer der Wirkung des Mittels ohne Nachteil ausgesetzt.

4. Unbehandelte Ohrwürmer verhielten sich in allen Fällen, in denen solche neben behandelten gehalten wurden, normal.



Ohrwürmer, die durch Laufen über mit Detal behandelter Oberfläche zugrunde gegangen sind.

Versuche mit Lymantrin.

Einem am 31. 8. mit Lymantrin eingestäubten großen Glaszylinder (Länge 25, ⌀ 4,3 cm), der an beiden Enden mit je einem gleich großen nicht behandelten Zylinder offen verbunden worden war, wurden alsbald 20 Ohrwürmer zugesetzt. Nachdem die 75 cm lange Gesamtröhre mit Drahtnetzkappen versehen war, wurde sie so gehalten, daß die Ohrwürmer einige wenige Male den behandelten mittleren Zylinder durchlaufen mußten. Abbruch des Versuches am 4. 9., da sämtliche Tiere ohne Nachteil normal beweglich geblieben waren.

Versuche mit Detal.

I. Versuche mit einer Anzahl von Tieren.

a) Anordnung und Durchführung der Versuche wie unter Lymantrin. Der mittlere Zylinder wurde einmal — und zwar am 31. 8. — leicht eingestäubt. Beschickungen:

1) 31. 8. 10^{00} Uhr 20 Ohrwürmer; 12 Uhr alle tot (trotz Aufbewahrung dieser Tiere bis zum 4. 9. in nicht behandelten Röhrchen keine Wiederbelebung).

2) 1. 9. 10^{35} Uhr 20 Ohrwürmer; 11^{47} Uhr alle tot (Leichen mehrere Tage beobachtet).

3) 1. 9. 16⁰⁰ Uhr 16 Kellerasseln, 3 Scolopender, 2 Julus, 1 Grille ♀, 1 Ohrwurm; 17³⁰ Uhr tot 16 Kellerasseln, 1 Grille, 3 Scolopender; 2. 9. 8 Uhr alle Versuchstiere tot (Leichen mehrere Tage beobachtet).
4) 4. 9. 8¹⁵ Uhr 1 Stabheuschrecke; 11 Uhr zusammengebrochen, 14³⁰ Uhr tot.
5) 4. 9. (nach Auswechslung der seitlichen Glaszylinder) 13¹⁵ Uhr 5 Käfer *Anthonomus rectirostris*; u. 14³⁰ Uhr 3 Käfer *Apion* spec. 1 Baumwanze, 1 Eule; 17³⁰ Uhr alle Tiere tot; 5. 9. 8 Uhr dasselbe.
6) 7. 9. 13³⁰ Uhr 19 Ohrwürmer; 14³⁰ Uhr tot.
7) 7. 9. 14³⁰ Uhr 3 Stabheuschrecken; 8. 9. 8 Uhr 2, 12 Uhr 3 tot.
8) 8. 9. 10⁰⁰ Uhr 15 Ohrwürmer; 16 Uhr tot.
9) 9. 9. 8¹⁵ Uhr 10 Ohrwürmer; 10²⁰ Uhr tot.
10) 11. 9. 11¹⁵ Uhr 5 Käfer *Anthonomus rectirostris*; 12. 9. 8 Uhr tot.
11) 21. 9. 8⁰⁰ Uhr 9 Ohrwürmer; 22. 9. 8 Uhr 7 tot, 2 noch lebend. 5. 10. 1 Ohrwurm am Leben.
12) 12. 10. 11²⁰ Uhr 8 Ohrwürmer; 13. 10. 8 Uhr 6 tot, 2 am Leben; 21. 10. alle tot (unbehandelte Kontrolltiere am Leben).
13) 9. 11. 9⁰⁰ Uhr 10 Ohrwürmer; 11. 11. alle am Leben.

b) Versuche mit einer sog. *Perga-Packung*, einem Behälter aus paraffiniertem Papier, das „garantiert fett- und wasserdicht, keimfrei und geruchlos" sein soll. Gefäß wurde am 28. 9. 8 Uhr mit Detal gut eingestäubt, dann aber so ausgeklopft, daß nur ein dünner, äußerlich kaum sichtbarer Staubbelag vorhanden war. Gefäß blieb offen, z. T. auch während der einzelnen Beschickungen. Verlauf der Einzelversuche:

1) 28. 9. 8¹⁰ Uhr 10 Ohrw.; 9³⁰ Uhr 6 tot, 4 fast tot.
2) 5. 10. 9³⁰ Uhr 10 Ohrw.; 11 Uhr fast alle tot; 14³⁰ Uhr alle tot.
3) 12. 10. 11³⁰ Uhr 10 Ohrw.; 18 Uhr fast alle tot; 13. 10. 8³⁰ Uhr alle tot.
4) 16. 10. 40 Ohrw. während verschiedener Zeiten ausgesetzt (s. S. 226).
5) 22. 10. 13⁰⁰ Uhr 10 Ohrw.; 23. 10. 8³⁰ Uhr tot.
6) 3. 11. 15²⁰ Uhr 147 Kornkäfer; 4. 11. 8¹⁵ Uhr tot.
7) 9. 11. 9⁰⁰ Uhr 10 Ohrw.; 10. 11. 8³⁰ Uhr 5 lebend; 11. 11. 8³⁰ Uhr 5, 12. 11. 4, 13. 11. 3 und 16. 11. 2 am Leben.

II. Versuche mit *Einzeltieren*.

Je ein Ohrwurm wurde in eine auf der gewölbten Seite eines halbierten Flaschenkorkes eingeschnittene flache Rinne gelegt und mit Hilfe von schmalem Schnürgummi, der über Kehle und Hinterleib lief, festgehalten.

a) Nach Entfernung der Fühler wurde das Stäubemittel mit einem feinen Pinsel vorsichtig auf die Tarsalglieder einiger Beine aufgestrichen. Als nach rund 6 Std. die aus ihrer Lage befreiten Versuchstiere in Einzelröhrchen übertragen wurden, verhielten sich die unbehandelten normal, während der größte Teil der behandelten bereits tödlich vergiftet gewesen ist. Es waren das 2 Tiere mit je 6 bepuderten Tarsen und 2 von 3 mit je 4 bestäubten Fußgliedern. Im letzten Fall ist das noch lebende 3. Tier stark gelähmt gewesen; es hatte am 4. Versuchstag trotz erhalten gebliebener Lähmung ein Bein abgeworfen. Von 2 weiteren Tieren mit je 2 bestäubten Tarsen ist 1 am folgenden Tag gestorben, während das 2. am 3. Tag ein Bein abgestoßen (autotomiert) hatte.

b) Im staubförmigen und flüssigen Zustand wurde das Mittel mit einem feinen Pinsel entweder auf die Fühler oder auf die Tarsen von gefesselten Tieren aufgetragen. Die nach rund 1 Std. aus ihrer Lage entlassenen Tiere gelangten wiederum in Einzelröhrchen. Ergebnisse: Von 9 Tieren mit bepuderten Fühlern sind 7, von 2 mit bestäubten Tarsen beide eingegangen;

dagegen ist von 5 Tieren mit benetzten Fühlern nur 1 und von 5 mit ebenso behandelten Tarsen keins getötet worden. Von den nicht behandelten Ohrwürmern ging einer am Tage nach der Versuchsanstellung zugrunde. Des weiteren ist bemerkenswert, daß die mit flüssigem Detal behandelten Tiere sich von ihrer anfänglichen Teillähmung erholten, während die am Leben gebliebenen gepuderten stark gelähmt blieben. Ein Tier hatte am 3. und 4. Versuchstag je ein Bein abgestoßen.

Die Ähnlichkeit der neurotoxischen Wirkung des im Detal enthaltenen Dinitrokresols mit derjenigen des Pyrethrums ist unverkennbar[1]). Es scheint sogar, daß gegenüber dieser in der Phytopathologie nicht neuen Verbindung die Empfindlichkeit gewisser Tiere eine gesteigerte ist. Die entsprechenden Versuche mit Lymantrin verliefen, wie aus Obigem hervorgeht, ergebnislos. Des weiteren gingen die gegen Pyrethrum so widerstandsfähigen Stabheuschrecken, die (am 7. 9.) über eine 8 Tage zuvor mit Detal eingestäubte Glasfläche gelaufen waren, verhältnismäßig rasch ein. Das war auch der Fall, wenn dieses Insekt für kurze Zeit auf leicht bestäubten Lindenblättern gestanden hatte. Sehr bemerkenswert ist ferner die durchschlagende Wirkung auf Getreidekornkäfer 36 Tage nach erfolgter Behandlung des Versuchsbehälters.

Die Giftwirkung des Präparates ist nun aber nicht nur vom Zustand, in dem es zur Anwendung gelangt, abhängig, sondern auch von Dauer und Menge seiner Verwendung. Letzteres geht aus folgenden Versuchen hervor.

Es wurden mit Hilfe einer feinen Präpariernadel Staubteilchen bzw. Flüssigkeitströpfchen auf die Haftläppchen des letzten Tarsalgliedes aufgetragen. Die nach etwa 3 Std. aus ihrer Lage befreiten Tiere zeigten mehr oder weniger erheblich starke Lähmungen und zogen fortgesetzt die offenbar als störend empfundenen gelähmten Beinglieder durch den Mund. Zunächst schien sich ein Teil dieser Tiere zu erholen. Wie aus nachstehender Übersicht hervorgeht, war das aber nur vorübergehend der Fall.

	Ohrwurmer tot nach				Zusammen	
	1 Tag	2 Tagen	5 Tagen	8 Tagen	tot	gesund
Unbehandelt	0	0	1	0	1	4
Detal staubförmig . . .	0	1	2	1	4	1
Detal flussig[1])	1	2	2	1	5	0

[1]) Detal flüssig enthielt, wie ich später erfuhr, prozentual die gleiche wirksame Menge Insektizid wie Detal staubförmig, war aber auf Grund der Gebrauchsanweisung der Herstellerin auf das 50 fache verdünnt worden.

In diesem Versuch hat das flüssige Detal ebenso gut, wenn nicht sogar etwas besser, vor allem jedoch rascher tödlich gewirkt als das staubförmige. Dieses überraschende Ergebnis, das in einem gewissen Gegensatz zu den früher (unter II b) beschriebenen und weiter unten (S. 226) erwähnten steht, dürfte wohl darauf zurückzuführen sein, daß die Benetzung kräftiger ausgefallen ist als die Bestäubung. Im ersteren Fall kam auf die Tarsalläppchen ein von der Nadel abgelaufenes Tröpfchen, im letzteren Falle dagegen konnten immer nur an der Nadel haften gebliebene wenige Staubteilchen auf die

[1]) Klinger, H., Die insektizide Wirkung von Pyrethrum- und Derrisgiften und ihre Abhängigkeit vom Insektenkörper. Arbeiten über physiol. u. angewandte Entomologie aus Berlin-Dahlem. Bd. 3. 1936. S. 57.

Läppchen abgestrichen werden. Außerdem ist zu beachten, daß das äußerlich angewandte flüssige Detal im frischen Zustande, wenn auch nur für kurze Zeit, giftig wirkt.

Zeitversuche wurden im 18 Tage zuvor eingestäubten und darauf wiederholt mit Tieren beschickten Perga-Behälter (s. unter I b) am 16. 10. mit je 10 Ohrwürmern durchgeführt.

Die Ergebnisse waren folgende:

Versuchsdauer in Stunden	Bei Abbruch des Versuchs bewegungslos	Nach 1 Tag tot	Nach 5 Tagen tot	Nach 5 Tagen gelähmt	Tot (insgesamt)
½	0	3	1	1	4
1	5	7	0	2	7
1½	7	8	0	2	8
3½	10	10	—	—	10

Die Anzahl der eingegangenen Tiere hat mit der Versuchsdauer zugenommen. Die Auswirkung der Behandlung ist jedoch nach Ablauf des ersten Beobachtungstages kaum noch gestiegen. Diese Feststellung darf indessen nur auf die im Versuch gegebenen Bedingungen (hauchartige Einstäubung vor 18 Tagen) bezogen werden. Wurden Ohrwürmer veranlaßt, eine schmale, aber mit Detal kräftig bestreute Strecke zu durchqueren, so genügte diese kurze einmalige Berührung mit den Tarsen, um nach wenigen Stunden ihren Tod herbeizuführen. Nicht selten kehrten die Ohrwürmer um, wenn sie an solche Detalhäufchen kamen. Indessen war dabei oft bereits eine Bepuderung der Fühler zustande gekommen. Andererseits ist das Mittel von solchen Tieren, die sich stärker einstäubten, derart verschleppt worden, daß die Nachkommenden, die diese Fläche betreten haben, daran zugrunde gegangen sind.

Sehr auffällig ist der Wirkungsunterschied auf Ohrwürmer bei Anwendung von staubförmigem und flüssigem Detal. Von 4 Tieren, die auf kurz zuvor mit flüssigem Insektizid behandeltes Fließpapier gebracht wurden, sind 3 erst nach 24 Std. eingegangen, das 4. starb sogar erst am 4. Versuchstag. Eine 2. Beschickung der Versuchsfläche verlief ergebnislos; die Tiere waren am 5. Tage zwar etwas mitgenommen — sie bewegten sich nicht so lebhaft wie sonst —, verhielten sich im übrigen aber normal.

Eine ähnliche Wirkung ergab staubförmiges Detal bei nachträglicher Benetzung. Wurden Ohrwürmer unter einer größeren Drahtnetzglocke auf kräftig angefeuchtetes, zuvor mit Detal bestäubtes Fließpapier gebracht, so gingen diese nach einigen Stunden ein. Eine 2. Beschickung des Behälters blieb ohne diese Wirkung, auch wenn die trocken gewordene Unterlage erneut mit Wasser besprengt wurde. Es genügte sogar die von einem mäßig feuchten Sand abgegebene Feuchtigkeit, um auf Wellpappe aufgestäubtes Detal gegen Ohrwürmer ungiftig zu machen.

Auffällige Wirkungsunterschiede stellten sich des weiteren bei Verwendung verschiedener Unterlagen als Träger des staubförmig angewendeten Mittels heraus.

Wurden die Versuchstiere in die Mitte eines bestäubten Papptellers von 27 cm ⌀ aufgesetzt und, nachdem sie nach Überschreiten desselben in einen darunter gehaltenen unbehandelten Behälter gefallen waren, isoliert, so er-

gab sich, daß nach Ablauf von 2—4 Tagen in 3 getrennten Versuchen mit 59 Ohrwürmern 31, d. s. 53% zugrunde gegangen waren. Die tödlich verlaufenden Lähmungen der Tiere traten teilweise bereits nach Ablauf einer halben Stunde in Erscheinung.

Wesentlich ungünstiger verliefen dieselben Versuche, wenn die Tiere auf eine in üblicher Weise bestäubte Sandschicht gebracht wurden (1. 9.). Hier gingen im Laufe zweier Tage von 20 Ohrwürmern nur 3 Stück ein. Die übrigen verhielten sich normal. Auch nach nochmaliger Bestäubung der Sandfläche blieb das Ergebnis dasselbe. Von 22 Versuchstieren verendeten nur 4. Wurden jedoch Ohrwürmer unter je einem Glasdeckel auf behandeltem Sand und gleichzeitig auf einer sandfreien bestäubten Stelle des Kartons gehalten, so zeigte sich sofort wieder der Gegensatz in der Wirkung des Mittels. Im letzteren Falle waren die Tiere nach rund 3 Std. tot, im ersteren sind sie nach 6 Tagen und trotz Wechsels der Versuchsflächen am Leben geblieben. Der Grund für den Wirkungsunterschied liegt vermutlich darin, daß die Einstäubung der durch den Sand sehr erheblich vergrößerten Oberfläche nicht gereicht hat, um die Tarsen des Insekts ausgiebig einzustäuben.

Tab. 1. Versuche mit in großen Glasdoppelschalen aufbewahrten behandelten Trägern des Detals.

Träger	Tag der Behandlung	Beschickungen mit Ohrwürmern				
		sofort	nach 4 Tagen		nach 14 Tagen	nach 35 Tagen
Tonscherben . . .	7./9.	20/20 (½)	10/10 (½)		10/10 (½)	10/10 (1)
Holz (Brettchen v. Zigarrenkiste) . .	7./9.	20/20 (½)	10/10 (½)		10/10 (6)	10/10 (6)
		sofort	nach 2 Tagen	nach 6 Tagen	nach 16 Tagen	nach 37 Tagen
Laub	5./9.	20/20 (½)	9/9 (1)	10/10 (1)	10/10 (3)	10/10 (5)
Plüsch	5./9.	16/16 (½)	21/21 (½)	9/10 (1)	10/10 (9)	9/10 (9)
Wellpappe	5./9.	20/20 (½)	13/17 (4)		7/10 (12)	6/10 (9)
		sofort	nach 3 Tagen		nach 17 Tagen	nach 38 Tagen
Nesselstoff	4./9.	18/20 (1)	5/5 (2)		8/10 (18)	2/10 (9)

Bemerkung: Der Zähler des Bruches gibt die Anzahl der eingegangenen Ohrwürmer, der Nenner die Anzahl der Versuchstiere an. Die hinter den Bruch gesetzte Zahl in ( ) bedeutet die Anzahl Tage, die seit der Beschickung mit Tieren verflossen war. Der Bruch ½ soll besagen, daß das Ergebnis vor Ablauf 1 Tages festgestellt worden ist.

Bei den in Tab. 1 zusammengefaßten Versuchen wurden die eingestäubten Träger des Mittels zusammen mit von Zeit zu Zeit hinzugesetzten Ohrwürmern in großen Doppelglasschalen gehalten. Dabei sind die aus mehreren Stücken bestehenden Träger immer so gelegt worden, daß sich die Tiere verkriechen konnten. Vor Beginn jeder neuen Versuchsserie wurden die Schalen gründlich gereinigt oder gegen unbehandelte ausgetauscht.

Der Vergleich der Ergebnisse besagt, daß die Giftwirkung des Detals auf den eingestäubten Tonscherben und Brettchen am besten, auf Wellpappe

und Nesselstoff am schlechtesten gewesen ist. Laub und Plüsch standen gewissermaßen dazwischen, wobei Laub besser abgeschnitten hat als Plüsch. Wellpappe, vor allem aber Nesselstoff haben schon kurze Zeit nach erfolgter Behandlung versagt. Worauf diese Wirkungsunterschiede beruhen, bedarf noch der Klärung; vermutlich spielen dabei chemische und physikalische Vorgänge eine Rolle.

In einer 2. Versuchsreihe sind im Inneren eingestäubte und nicht behandelte Tontöpfe benutzt worden, indem letzteren verschiedenartig behandelte Träger zugegeben wurden (Tab. 2). Die Ohrwürmer kamen durch das Ablaufloch der Töpfe, die mit ihrem Rand aufeinander standen, ins Innere.

Tab. 2. Versuche mit eingestäubten Tontöpfen (Nr. 1) und mit in Tontöpfen aufbewahrten behandelten Trägern des Detals (Nr. 2—5). (Über Deutung der Ergebnisse siehe Bemerkungen der Tab. 1.)

Nr. d. Versuchs	Träger	Behandlung	Beschickungen mit Ohrwürmern nach 4 Tagen	nach 20 Tagen	nach 34 Tagen
1.	Tontöpfe	innen eingestäubt	40/40 (½)	36/40 (7)	22/38 (9)
2.	Papierschnitzel . . .	in nicht behandelten Tontöpfen aufbewahrt	10/10 (½)	10/10 (½)	10/10 (2)
3.	Holzwolle		8/8 (2)	9/9 (5)	3/10 (9)
4.	Fettwatte		10/10 (4)	8/10 (7)	10/10 (9)
5.	Strohbündel		7[1])/10 (2)	10/16 (7)	4/10 (9)

[1]) Rest entkommen.

Die insektizide Wirkung der Tontöpfe (Nr. 1) hat nicht so lange angehalten, wie die der in Glasschalen aufbewahrten Tonscherben (Tab. 1). Im ersteren Falle ist sie bereits nach 20 Tagen nicht mehr vollständig gewesen; sie blieb hinter derjenigen der Papierschnitzel zurück, die sich nach Ablauf von 34 Tagen noch befriedigend giftig erwiesen. Die übrigen Träger des Versuches schnitten weit weniger günstig ab.

Die Frage, ob Ohrwürmer für sie tödliche Detaleinstäubungen wahrzunehmen in der Lage sind, wurde durch folgende Versuchsanordnung zu beantworten versucht. Es wurden je zwei gut aufeinanderpassende Tontöpfe mit der Öffnung aufeinandergestellt, nachdem jeweils der obere oder untere Topf bestäubt worden war. Nachdem die Ohrwürmer durch das Ablaufloch des oberen oder unteren Topfes hinzugesetzt worden waren, ist es verschlossen worden. Die Ohrwürmer hatten damit Gelegenheit, falls sie das Detal zu meiden imstande waren, den jeweils unbehandelten Topf aufzusuchen. Um zu verhindern, daß sie von in der Luft vorhandenen Staubteilchen des Mittels beeinflußt wurden, sind sie erst 1 Tag nach erfolgter Verstäubung der Töpfe eingesetzt worden.

Das Versuchsergebnis ist in Tab. 3 zusammengefaßt. Es zeigt eindeutig, daß die Ohrwürmer das Mittel nicht wahrgenommen haben, da sie den bestäubten Töpfen nicht ausgewichen sind. Nach 5tägiger Versuchsdauer war die Anzahl der toten Tiere in den behandelten unteren Töpfen mit unterer Beschickung am größten (100%); es folgten die Versuche mit unterer Bestäubung und oberer Tierbeschickung (93%). Die Wirkung war viel schwächer bei oberer Bestäubung und oberer Beschickung (44%), sowie bei oberer Behandlung und Beschickung von unten (32%). Die Tiere hatten sich also vor-

Tab. 3. Versuche mit zwei aufeinander gestülpten Tontöpfen, von denen einer mit Detal behandelt ist.

Versuch	Anzahl d. Einzelversuche	Am 13. 11. eingestäubter Topf	Am 14. 11. Ohrwürmer zugesetzt von	Ergebnisse: Anzahl der Tiere 14. 11. zus.	oben	unten	tot	16. 11. zus.	oben	unten	tot	19. 11. zus.	oben	unten	tot	Tote Ohrwürmer insgesamt abs.	%
1	2	unten	unten	20	6	1(14)[1]	13	7	0	3 (7)	4	3	0	0	3	20	100,0
2	3	unten	oben	29	7	4 (22)	18	11	1	7 (10)	3	8	0	2	6	27	93,1
3	2	oben	oben	18	0	16	2	16	6	9	1	15	4	6	5	8	44,4
4	2	oben	unten	11	0	10	1	10	0	8	2	2	0	1	1	4	32,3
5	1	nicht eingestäubt	oben	9	0	9	0	9	0	9	0	9	0	5 (1)[2]	3	4 (5)	21,1
	1	nicht eingestäubt	unten	10	3	7	0	10	0	9	1	9	0	9	0		

[1]) Die in Klammern gesetzten Ziffern schließen die Anzahl der auf dem Boden befindlichen toten Tiere ein.

[2]) Aufgefressen.

wiegend im unteren Topf aufgehalten, gleichgültig, ob dieser behandelt gewesen ist oder nicht. Das stimmt auch mit Einzelbeobachtungen überein. Nach ihnen haben, von einer Ausnahme abgesehen, die Ohrwürmer immer viel häufiger im unteren als im oberen Topf verweilt. In den nicht behandelten Kontrollen saßen bei 6 Beobachtungen von zusammen 51 Tieren nur einmal 3 im oberen Topf. Zusammenfassend muß also gesagt werden, daß die Ohrwürmer das Stäubemittel nicht zu wittern und die behandelten Flächen, deren Betreten ihnen den sicheren Tod bringt, nicht zu meiden vermögen.

Für die Zwecke des landwirtschaftlichen Pflanzenschutzes bedarf das Verhalten des Detals im Freiland noch der sorgfältigen Bearbeitung. Vermutlich ist seine Wirkung daselbst auch bei verhältnismäßig trockener Witterung viel weniger anhaltend als im Laboratorium. Ob durch besondere Maßnahmen seine Empfindlichkeit gegen Feuchtigkeit und Nässe sowie die Verbrennungsgefahr für zartere Pflanzen und Pflanzenteile herabgesetzt werden kann, ist noch unsicher. Als „Insektenfußgift" scheint es vor allem gegen wenig empfindliche Schädlinge von Bedeutung zu sein. Seiner praktischen Verwendung im geschlossenen Raume dürften wegen seiner Giftigkeit für Menschen und Säugetiere gleichfalls enge Grenzen gesetzt sein. Die hier mitgeteilten Ergebnisse können daher zunächst nur ein wissenschaftliches Interesse beanspruchen. In dieser Hinsicht aber dürften sie dazu anregen, nunmehr auch die verwandten Verbindungen und Abkömmlinge des Insektizides einer sorgfältigen Analyse zu unterziehen.

Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

1. Die im Stäubemittel Detal enthaltene organische Verbindung von bekannter chemischer Konstitution ist im trockenen Zustand für zahlreiche Insekten, die über damit behandelte Flächen gelaufen waren, während verhältnismäßig langer Zeit hochgiftig. Auch als sehr widerstandsfähig bekannte Tiere (Stabheuschrecken, Getreidekorn- und Rüsselkäfer) gehen daran zugrunde.

2. Bei Ohrwürmern verläuft auch eine einmalige örtliche Berührung der Gliedmaßenteile (Tarsen, Fühler) tödlich. Da die „Kontaktwirkung" zu-

nächst zu Lähmungen führt, wird eine neurotoxische Wirkung des Insektizides vermutet.

3. Stärke und Dauer der Giftigkeit des Stäubemittels Detal sind von äußeren Umständen abhängig. Es wirkt wesentlich schwächer im angefeuchteten Zustand und in Verbindung mit gewissen Trägern (Nesselstoff, Wellpappe, Stroh). Auf leicht eingestäubtem Sand ließ es gleichfalls zu wünschen übrig. Als gute Träger erwiesen sich Glas, Ton, Karton, Papierschnitzel und Fettpapier (Perga-Packung).

4. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen hatte flüssiges Detal, auf bestimmte Körperteile (Tarsen, Fühler) frisch aufgetragen, im allgemeinen eine schwächere Giftwirkung als staubförmiges; mit angefeuchtetem staubförmigem Detal durchsetzte Träger (Wellpappe, Fließpapier, Nesselstoff) erwiesen sich nach kurzer Zeit als ungiftig.

5. Die mit staubförmigem Detal bepuderten tödlich wirkenden Flächen werden von Ohrwürmern nicht wahrgenommen, infolgedessen von ihnen auch nicht gemieden.

6. In mehreren Fällen haben isoliert gehaltene Ohrwürmer 1—2 Beine mit gelähmten Tarsalgliedern abgestoßen (autotomiert).

7. Ohrwürmer eignen sich aus mehreren Gründen (Häufigkeit, Widerstandsfähigkeit, Unterhaltung) als Testtiere zur Prüfung von „Fußgiften" im Laboratorium.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Oppenheimer, C., Die Fermente und ihre Wirkungen. Suppl.-Lief. 5. Den Haag (Verlag W. Junk) 1936. Preis 10 Holld.-Guld.

Lieferung 5 beschließt den 1. Band des Ergänzungswerkes. Vom Kapitel „Proteasen" liegt jetzt der erste Teil vor, der auf 95 Seiten „Bau und Abbau der Proteine" in sehr notwendiger und wünschenswerter Weise behandelt, also zunächst Fragen nach der Natur des Substrates (Bausteine, Grundkörper, Struktur des Eiweißmoleküls), dann Fragen nach der Affinität zwischen Substrat und Ferment. Auf 12 Seiten folgen dann „Nachweis und Bestimmung der Proteasen" und auf 63 Seiten die „Peptidasen". Nach dem Abschluß dieses 1. Bandes darf dieses Handbuch mit Recht als das Standardwerk der Fermentforschung bezeichnet werden, das in seinem Stil und seiner Anlage den Bedürfnissen von Forschung und Praxis entgegenkommt, die beim heutigen Stande der Fermentchemie immer noch das umfassende Handbuch mit möglichst vollständiger Literaturübersicht vorziehen müssen vor dem kurzen systematischen Lehrbuch, dessen Zeit noch nicht gekommen ist. Es ist nur bedauerlich, daß für den 2. Band bereits Kürzungen angekündigt werden, während doch gerade den noch ausstehenden Kapiteln, den Desmolasen, eine ganz außerordentliche Bedeutung zukommt.

Die Benutzung des Oppenheimerschen Handbuches kann wiederum nur angelegentlichst jedem empfohlen werden, dem bei seinen Arbeiten Fermentfragen theoretischer oder praktischer Natur begegnen.

E. Pfankuch (Berlin-Dahlem).

Enzymologia. Herausgegeben von **C. Oppenheim.** Heft 1—3. Den Haag (Verlag W. Junk) 1936. Preis 15 Holld.-Guld. je Band von 6 Heften.

Diese neue Zeitschrift soll international geführt werden, als Mitarbeiter sind zahlreiche sehr bedeutende Vertreter der außerdeutschen Biochemie

und Chemie genannt. Trotzdem und trotz der hervorragenden literarischen Verdienste des Herausgebers dürfte die Enzymologia nur eine weitere neue Zeitschrift darstellen und nicht die Zentral-Zeitschrift für die Fermentforschung. Die ersten 3 Hefte enthalten Beiträge von Neuberg, Kluyver, Linderström-Lang, Michlin, Jacobsohn, Goldstein, Sobotka u. a. in deutscher, englischer, französischer und italienischer Sprache. E. Pfankuch (Berlin-Dahlem).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Bürgers, Lodenkämper und **Verfürth,** Studien über die Pleomorphie. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 138. 1936. S. 58—66.)

Es wurden bei Einzellkulturen zweier Stämme ohne feststellbare äußere Reize neben der kokkoiden Pneumokokkenform als Grundform folgende lebens- und entwicklungsfähige Formen beobachtet: Stäbchen, Ketten mit langen Gliedern, Keulenformen und Fäden. Weiterhin traten, besonders in Mannibouillon, feine Stäbchen auf, die durch Filtration isoliert wurden. Diese Versuche wurden mit selbsthergestellten Membranfiltern durchgeführt, deren Porengröße vor und nach einer jeden Filtration genauestens bestimmt wurde. Die filtrierte und bebrütete Bouillon zeigte 14 Tage und länger makroskopisch keinerlei Veränderung, weder Trübung noch Bodensatz. Im hängenden Tropfen aber war bereits vom 3. Tage ab eine deutliche Zunahme der Körnchen bemerkbar. Diese wurden in den folgenden Tagen größer, und es traten feinste kokkoide Stäbchen hinzu, die aus den Körnchen hervorgegangen sein müssen. Weiterhin lagerten die Körnchen vielfach in Diploform, was auf Teilung schließen läßt. Vom 10. Tage an und später kam es vereinzelt zur Bildung von langen Ketten, die aus größeren Körnchen bestanden. Gleichzeitig traten relativ plumpe Stäbchen hinzu. Erst jetzt ging die Kultur auf festen Nährböden an. Die Ausgangsform entwickelte sich in der Regel nur auf festem Medium, nur ausnahmsweise in der Ausgangsbouillon oder in flüssigen Subkulturen. Mit Sicherheit konnte festgestellt werden, daß es sich bei den Körnchen weder um Bakteriophagen noch um Volutinkörnchen gehandelt hat. Es wird die Vermutung ausgesprochen, daß die lebenswichtigsten Teile des Protoplasmas winzige Kugelgestalt annehmen können, aus der Zelle austreten und unter optimalen Bedingungen allmählich in die größere Urform zurückkehren. Ob die Doldschen Granula bei Diphtheriebakterien und Granula bei Vibrionen ähnliche Gebilde darstellen, ist noch nicht geklärt, ebensowenig die Frage, ob Beziehungen zu der C-Form Kuhns bestehen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Eyer, H., Zur Frage der Bakterienvariabilität. [Untersuchungen über das Bacterium typhi flavum Dresel.] (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 116. 1936. S. 16—26.)

Trotz verschiedenster Methoden (Anwendung von chlorlithiumhaltigen Nährböden, Bakteriophagen u. ä.) konnte das Bact. typhi flavum nicht in Bact. typhi übergeführt werden (180 Überimpfungen).

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Dresel, E. G. und **Muny, H.,** Neue Umwandlungsergebnisse des Bacterium typhi flavum in das Bacterium typhi Eberth-Gaffky. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 116. 1936. S. 27—44.)

Neben zahlreichen vergeblichen Versuchen, die Umwandlung zu erzwingen, ergab ein aus dem Urin eines Typhuskranken gezüchteter Stamm auf Kokosnußplatten angeblich Umwandlung in typische Typhusbakterien.

Es wird weiter über die Umwandlung von 3 Gelbkeimstämmen auf Schrägagar in Bact. paratyphi B berichtet.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Muny, H., Über Umzüchtungen von Einzellkulturen des Bacterium typhi flavum in das typische Bacterium typhi Eberth-Gaffky. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 116. 1936. S. 45—77.)

Galle wirkt auf die Variationsbereitschaft der Gelbkeime sehr fördernd. Auf einem Nährboden, der Rindergalle und Bouillon zu gleichen Teilen enthielt, ist es erstmalig gelungen, eine mit dem Mikromanipulator hergestellte Gelbkeim-Einzellkultur nach 227 Tagen und 18 Passagen schrittweise in das typische Bact. typhi umzuwandeln. Das gleiche Ergebnis zeitigte Züchtung auf Kaninchenkot-Harnstoff-Agar, Kaninchenkotextrakt-Soda-Agar, Kokosnußmilchagar sowie in filtrierten Menschenstuhlaufschwemmungen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Guittonneau, G. und Chevalier, R., Sur l'utilisation de l'acide salicylique comme aliment énergétique par les Azotobacter du sol. (Compt. rend. d. Séanc. de Acad. d. Sc. T. 203. 1936. p. 211—214.)

Nachdem Winogradsky auf die Bedeutung aromatischer Kohlenstoffverbindungen als Energiequelle für Azotobakter hingewiesen hatte, haben Verff. die Eignung der Salycilsäure für diese Zwecke untersucht. Sie finden, daß weniger fruchtbare Böden nur wenig, fruchtbarere dagegen sehr viel Azotobakter-Stämme enthalten, die salycilsaueres Natrium als Energiequelle verwerten können. In Reinkultur wurden auf 1 g verbrauchter Säure fast 10 mg Stickstoff gebunden, das ist etwa dieselbe Menge, die auch mit Mannit als Kohlenstoffquelle erzielt werden konnte.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Guittonneau, G. und Chevalier, R., Sur la sensibilité des Azotobacter du sol à la structure moléculaire des acides monoxybenzoiques. (Compt. rend. d. Séanc. de Acad. d. Sc. T. 203. 1936. p. 1400—1402.)

Im Verlauf weiterer Untersuchungen über die Frage nach der Brauchbarkeit aromatischer Verbindungen als Kohlenstoffquelle für Azotobakter wurden die Natriumsalze der Ortho-, Meta- und Para-Oxybenzoesäure miteinander verglichen. Dabei ergab sich eine bemerkenswerte Empfindlichkeit der Azotobakter-Stämme gegenüber der molekularen Struktur dieser Säuren. Ihre Brauchbarkeit für Azotobakter hängt lediglich ab von der Stellung der Hydroxylgruppe zur Carboxylgruppe. Am günstigsten erwies sich die Para-Stellung und weniger geeignet die Ortho-Stellung, während die Meta-Stellung das Säuremolekül für Azotobakter unangreifbar zu machen scheint. Toxische Wirkungen konnten in keinem Falle festgestellt werden.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Oesterle, P., Die Verschleimung des Staphylococcus pyogenes aureus. Beitrag zur Biologie der Aureusstämme. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 221—225.)

Es wird ein schleimig wachsender Micr. pyogenes aureus

beschrieben, der in seinen kulturellen, fermentativen und pathogenen Eigenschaften als echter Pyokokkus anzusprechen ist. Menschen-, Hammel- und Rinderblut wurden hämolysiert, nicht dagegen Kaninchenblut. Da Schleimformen verschiedentlich (d'Herelle, Sonnenschein) auf Bakteriophagenwirkung zurückgeführt werden, wurde nach einem Lysin gesucht; jedoch ohne Erfolg. Ebensowenig zeigte ein Staphylokokkenphage Wirkung gegenüber dem Schleimstamm.

Durch 10—14 tägige Bebrütung bei 37° in steriler Ochsengalle ging aus dem Schleimstamm eine Normalform hervor, mit den biologischen und kulturellen Eigenschaften eines typischen Micr. pyogenes aureus.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Gastings, W. R. O. und Snijders, E. P., Untersuchungen über das Scleroma respiratorum (Sklerom). IV. Mitteilung. Die antigene Struktur der Skleromstämme im Vergleich mit den anderen Kapselbakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 1—23.)

Die serologische Einteilung der Kapselbakterien beruht auf 2 Faktoren, auf dem polysacchariden Kapselantigen und dem proteinen Bakterienkörperantigen. Die Einteilung der Spezies bezieht sich auf die Unterschiede der Bakterienkörperantigene. Innerhalb der Spezies ist in einem Teil der Fälle eine weitere Unterteilung nach dem Typus des Kapselantigens durchführbar. Im einzelnen ergab sich:

. Alle Sklerombakterien besitzen ein gleiches und spezifisches Körperantigen und dasselbe Kapselantigen.

Auch bei Bact. ozaenae ist das Körperantigen für alle Kulturen gleich und kennzeichnend für diese Spezies. Es existieren wenigstens 2 verschiedene Kapseltypen.

Die Friedländerstämme sind nach Art des Kapselstoffes in 3 Typen trennbar.

Komplizierter als bei diesen 3 Arten scheint der Antigenkomplex bei Bact. lactis aerogenes, da nicht einmal die Körperantigene alle gleich sind. Eine völlige Klärung der serologischen Verhältnisse bei dieser Art steht noch aus. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Yonemura, N., Über die immunisatorische Einteilung von Staphylococcus pyogenes. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie. Bd. 89. 1936. S. 392—397.)

324 aus 29 verschiedenen Krankheitsherden isolierte Stämme pyogener Staphylokokken waren nach ihrem agglutino-absorptorischen Verhalten in 9 Typen mit spezifischen Rezeptoren trennbar. Die Farbstoffbildung war bei diesen Typen verschieden stark ausgebildet, die Hämolysinbildung dagegen zeigte keine Unterschiede.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Goldmann, W., Untersuchungen über den Coli-Milzbrandantagonismus. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 345—352.)

Der zuerst von Gundel und seinen Mitarbeitern beobachtete Antagonismus zwischen Milzbrandbazillen und Bact. coli wurde einer eingehenden Prüfung unterzogen. In der Regel kam es nur zu einer vorübergehenden mehr oder weniger starken Unterdrückung des Milzbrandbazillus, nicht zu einer gänzlichen Vernichtung. Der phasenförmige Ablauf der Vor-

gänge trat auch im Tierkörper deutlich hervor. Wie Coli wirkten auf Milzbrand auch Bact. pyocyaneum und ein Bazillus aus der Mycoides-Gruppe.

Die Ursache der Wachstumsbeeinflussung des Milzbrandbazillus scheint nach diesen Ergebnissen auf gewissen inneren Bedingungen der reduktiv-oxydativen Stoffwechselvorgänge zu beruhen: Wenn die Wachstumsenergie der Colibakterien infolge der erreichten Populationsdichte nachläßt, ergeben sich für die restierenden Milzbrandkeime wieder annehmbare Lebensbedingungen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Brasch, H., Das Verhalten der gramfesten und gramfreien Bakterien bei der Cyanochinfärbung nach Eisenberg. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 73—76.)

Die durch die Cyanochinmethode gegebene Differenzierungsmöglichkeit der Gramfesten und Gramfreien hat sich innerhalb bestimmter Grenzen als zuverlässig erwiesen. Erreicht jedoch die Wasserstoffionenkonzentration des Milieus einen bestimmten Wert, so verhalten sich die Gramnegativen wie die Gramfesten. Diese Anfärbung der Gramnegativen steht in Beziehung zum isoelektrischen Punkt; wahrscheinlich spielen aber auch noch andere Faktoren eine Rolle. Das Alter der Kulturen und die Art des Nährbodens ist, im Gegensatz zur Gramfärbung, ohne Einfluß auf den Ausfall der Cyanochinfärbung. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Guerrini, G., Über die durch photodynamische Substanzen bestimmten Wirkungen auf die Fähigkeit des Bac. coli, Milchzucker zu vergären. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 241—243.)

Entgegen der bisherigen Anschauung üben photodynamische Stoffe auf Bakterien nicht ausschließlich eine hemmende Wirkung aus.

Methylviolett hat immer eine anregende Wirkung entwickelt, proportional zur verwendeten Menge: Maximalwirkung bei $666 \cdot 10^{-7}$ g, Minimalwirkung bei einer Menge von $41 \cdot 10^{-7}$ g auf 28 ccm Bakteriensuspension in synthetischer Kulturflüssigkeit mit 2% Laktosezusatz.

Eosin, Fluoreszin und Äskulin wirkten anregend bei einer Menge, die zwischen $41 \cdot 10^{-7}$ g und $333 \cdot 10^{-7}$ g lagen. Hemmende Wirkung ergaben dagegen Mengen zwischen $82 \cdot 10^{-7}$ und $666 \cdot 10^{-7}$ g.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kluyver, A. J. und Hoogerheide, J. C., Beziehungen zwischen den Stoffwechsel-Vorgängen von Hefen und Milchsäure-Bakterien und dem Redox-Potential im Medium. (Enzymologia. Bd. 1. 1936. S. 1—21.)

In Suspensionen von in Stoffwechsel befindlichen Mikroorganismen stellen sich an Edelmetallelektroden in Gegenwart geeigneter Redox-Indikatoren gut definierte Potentiale ein, die für den betreffenden Stoffwechselvorgang charakteristisch sind. Alle untersuchten Hefen erzeugten bei der alkoholischen Gärung ein Potential, das einem r_H von etwa 9 entsprach (falls Sauerstoff völlig ausgeschlossen wurde, bei Sauerstoffanwesenheit ist das Potential abhängig vom Verhältnis Atmung : Gärung). Das für die Milchsäuregärung typische Potential, das von einer Anzahl verschiedener Milchsäurebildner in gleicher Weise erzeugt wurde, entspricht einem r_H-Wert von 5—6. E. Pfankuch (Berlin-Dahlem).

Medwedew, G. und Chomitsch, A., Über die Veränderungen der biochemischen Eigenschaften der Hefen beim Waschen. (Planta. Bd. 26. 1936. S. 301—310.)

Wiederholtes Waschen lebender Hefezellen mit Wasser bewirkt eine Verminderung der Gärungs- und Vermehrungsintensität der Hefen, die auf einen beträchtlichen Verlust der in den Hefezellen enthaltenen „Biokatalysatoren" zurückgeführt wird. Die ungünstige Wirkung der Waschung auf Gärungsvermögen und Vermehrung der Zelle erstreckt sich noch auf mehrere Zellgenerationen. Daraus schließen die Verff., daß der durch das Waschen der Zellen entstandene Verlust an Biokatalysatoren nicht so schnell ersetzt wird und daß demzufolge „die neuen Hefezellen durch Sprossung aus der Mutterzelle eine herabgesetzte Menge der Biokatalysatoren" erhalten.

Veränderungen der biochemischen Eigenschaften der Zellen, die durch Aufbewahrung lebender Hefezellen unter Wasser hervorgerufen werden, bezeichnen Verff. als „Altern" der Zellen. Beim „Altern" der Hefen wird ebenfalls die Gärungs- und Vermehrungsaktivität der Zellen herabgesetzt. Der ungünstige Einfluß des „Alterns" auf Gärung und Vermehrung soll aber nicht auf einer Verarmung an „Biokatalysatoren" beruhen, sondern andere noch unbekannte Ursachen haben. Zu dieser Schlußfolgerung gelangen Verff. auf Grund von vergleichenden Untersuchungen, nach denen durch Waschen der Zellen der „enzymatische Apparat der Hefen" abgeschwächt wird, während das „Altern" der Zellen keinen Einfluß auf die „Aktivität des enzymatischen Gärungsapparates" ausübt. Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Hilpert, R. S., Friesen, G. und Rossée, W., Der Einfluß des Nährbodens auf die chemische Zusammensetzung des Aspergillus niger. (Biochem. Ztschr. Bd. 289. 1937. S. 193—197.)

Da der Stickstoffgehalt der Flechten bei etwa 0,5%, derjenige der Pilze aber bei etwa 5% liegt, erhob sich die Frage, ob die Zusammensetzung der Pilze mit der Veränderung der Ernährungsbedingungen in weiten Grenzen ebenfalls veränderlich ist. Zur leichteren Durchführung der Arbeiten wurde Aspergillus niger als Versuchsobjekt gewählt, der auf verschiedenen Nährböden mit verschiedenen Stickstoffverbindungen und mit verschiedenem Stickstoffgehalt gezüchtet wurde. Die geernteten Pilzdecken wurden nach Extraktion mit Wasser und mit Alkohol-Benzol der Analyse unterworfen, deren Ergebnisse sich also vornehmlich auf die Gerüstsubstanz des Pilzes beziehen. Es hat sich gezeigt, daß mit steigendem Stickstoffgehalt des Nährbodens auch derjenige der Gerüstsubstanz zunimmt. Aber auch der Kohlenstoffgehalt ist solchen Schwankungen unterworfen. Die unteren Werte für Stickstoff liegen im Bereich derjenigen für Flechten, die oberen im Bereich derjenigen für höhere Pilze. Einsporenkulturen verhalten sich nicht anders. Es scheint auch nicht so zu sein, daß nur einige bestimmte Bestandteile variiert werden. Vielmehr scheint die gesamte Substanz annähernd einheitlich zusammengesetzt zu sein. Bei fraktionierter Auslaugung mit 1proz. und 10proz. Natronlauge hat sich ferner gezeigt, daß das Chitin, das als Bestandteil der Pilze gilt, gar nicht in nennenswerter Menge vorliegen kann.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Hilpert, R. S., Becker, D. und Rossée, W., Untersuchungen an Flechten, Pilzen und Algen. (Biochem. Ztschr. Bd. 289. 1937. S. 179—192.)

Vermittels chemischer Analyse wurde die Gerüstsubstanz einiger Ver-

treter der Pilze, Flechten und Algen untersucht. Sie ist grundsätzlich verschieden von derjenigen der höheren Pflanzen. So wird bei Kochungen mit Alkali oder Natriumsulfit fast die gesamte Substanz aufgelöst, die sich demnach wie die Hemizellulosen der höheren Pflanzen verhält. Auch Mineralsäuren wirken auf Flechten, Pilze und Algen anders als auf höhere Pflanzen, was besonders für den Einfluß der Temperatur und die Veränderung des Methoxylgehalts zutrifft. Die verbleibenden ligninartigen Stoffe können ihre Entstehung auch der Einwirkung der Säuren auf gewisse Zucker verdanken. Der Unterschied zwischen Pilzen und Flechten besteht vor allem in dem höheren Stickstoffgehalt der Pilze, der aber sehr wahrscheinlich nicht vom Chitin herrührt. Die Richtigkeit mancher schon in Lehrbüchern verankerten Anschauung erscheint somit anfechtbar und weiterer Nachprüfungen bedürftig, sofern solche heute mit den verfügbaren Methoden überhaupt möglich sind. Z. B. kann über den Nährwert der Pilze vorerst gar nichts ausgesagt werden. Daß die Zellulose, die Substanz, die dem Gerüst die mechanische Festigkeit verleihen soll, bei Pilzen und Flechten gar nicht und bei den Algen nur in sehr geringer Menge aufgefunden wurde, ist nicht weiter verwunderlich. Denn diese Pflanzen bedürfen der mechanischen Festigkeit längst nicht in dem Maße wie die höheren Pflanzen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Henneberg, G., Milchbakteriologische Feststellungen zur Enterokokkenfrage. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 138. 1936. S. 75—83.)

Da sich die als pathogen angesehenen Enterokokken zum Teil als identisch mit gewissen Milchsäurestreptokokken (Streptoc. lactis, faecium, liquefaciens) erwiesen haben, ist auch bei diesen unter Umständen mit Virulenz zu rechnen. Es ist bei diesbezüglichen Untersuchungen vor allem zu achten auf die ursprünglich aus den Organen stammenden, die Milch nicht dicklegenden, z. T. labbildenden, Lackmusmilch zunächst nicht verändernden, vor allem Dextrose und Saccharose säuernden Streptokokkenstämme; denn alle diese Eigenschaften sind auch für die pathogenen Streptokokkenstämme aus dem Darm charakteristisch.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Davis, J. G., A procedure for the isolation and identification of the lactic acid bacteria. (Proc. Soc. of Agr. Bacteriologists, Juli 1936. Sonderdruck Nr. 381.)

Im vorliegenden hat Verf. versucht, ein verhältnismäßig einfaches Verfahren aufzustellen, um rascher als es nach dem System von Orla-Jensen möglich ist, diejenigen Milchsäurebakterien zu bestimmen, die in Milch und Milcherzeugnissen vorkommen. — Vorher werden einige prinzipielle Ausführungen über die besondere Natur der Milchsäurebakterien gemacht, die als Grundlage für das aufgestellte Schema dienen sollen. Für die Isolierung der an die Milch angepaßten Typen eignet sich am besten Agar mit verdauter Milch oder Hefeextrakt + Glukose, für die Stämme pflanzlicher Herkunft Bierwürzeagar, für diejenigen tierischer Herkunft Blutagar und für die ubiquitären einfacher Glukoseagar (ev. + 5% Hefeautolysat). Wenn es nur darauf ankommt, zu bestimmen, ob gewisse Typen vorhanden sind, genügen Anreicherungsmethoden unter Berücksichtigung der geeigneten Temperatur, wofür Verf. eine besondere Zusammenstellung gegeben hat.

Die erste Unterteilung in die Untergruppen geschieht am besten durch genauere Bestimmung der Wachstumstemperaturgrenzen, des Wachstums in Lackmusmilch und der Zellform. Zur genaueren Identifizierung und Einordnung in eine bestimmte Art stellt man von den aufgefundenen Stämmen (nach vorheriger 2maliger Reinigung!) je nach ihrem Verhalten in den einzelnen Proben eine sog. Häufigkeitskurve ihrer Eigenschaften auf. Da sich aber hierbei keine scharfen Abgrenzungen zeigen, gilt es zu entscheiden, welchen Eigenschaften das Hauptgewicht beizulegen ist und welche Eigenschaften vernachlässigt werden können. Verf. schlägt hierzu folgendes vor: 1. Typen, die mit der größten Häufigkeit ihrer Eigenschaften dem Strept. lactis ähnlich sind, sollen unter „typischem Strept. lactis" oder einfach „Strept. lactis" eingereiht werden. 2. Formen, die sich in der Mitte zwischen den Maximum- und Minimumzonen befinden, sollen als „atypischer Strept. lactis" bezeichnet werden oder z. B. als „Strept. lactis (Stärke +)" zum Zeichen, daß dieser Stamm im Gegensatz zum typischen Strept. lactis Stärke abbaut. 3. Wenn sich zwei Formen in charakteristischer Weise nur durch eine einzige, aber immerhin hervorstechende Eigenschaft unterscheiden, so soll dies wohl durch den Namen zum Ausdruck kommen, ohne daß aber dadurch eine besondere Art aufgestellt wird (? der Ref.). So unterscheiden sich z. B. Strept. liquefaciens und Strept. glycerinaceus nur durch die Proteolyse, es wäre aber pedantisch, den Strept. liquefaciens unter „Strept. glycerinaceus (Gelatine +)" anzuführen. 4. Stämme, die in der Mitte zwischen zwei Arten stehen, sollen einen kombinierten Namen bekommen, so z. B. Lactobacillus casei-plantarum. Charakteristische Eigenschaften, die nach Verf.s Ansicht als für laufende Laboratoriumsklassifizierung am besten geeignet sind, sind folgende: 1. Wachstum und End-p_H in Glukose-Bouillon, 2. Endazidität in Milch, 3. Zuckervergärung, 4. Prüfung der Hitzeresistenz (15' bei 60° C) und 5. Das Wachstum in Gallensalz-Laktosebouillon (2% Pepton, 0,5% Laktose + 0,5% Natriumtauroglycocholat, p_H 6,8).

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Kahmann, Th., Der Coli aerogenes-Titer in beanstandeter Milch. Inaug.-Diss. Münster/Westf. 1935.

Verf. beschäftigte sich in der Hauptsache mit dem Ausmaß der Coli aerogenes-Infektion in solchen Milchen, die laut Reichsmilchgesetz und Ausführungsbestimmungen behördlicherseits beanstandet wurden (Unsauberkeit, schlechter Geschmack oder Geruch, zu frühe Gerinnung). Zum Nachweis der Coli aerogenes-Gruppe wurden folgende Untersuchungsverfahren angewendet: 1. Gasprobe in Gentianaviolett-Laktose-Pepton-Gallelösung. — 2. Plattenkultur durch Ausstreichen auf Bromthymolblau-Laktose-Trypaflavin-Agar. — 3. Nachprüfung der auf den Platten ausgewachsenen Kulturen in der Gärprobe. Ergebnisse: Bei der Verimpfung von jeweils $^1/_{100}$ ccm der beanstandeten Milch in Gentianaviolett-Gallebouillon ergaben 87 von 100 Milchproben ein positives Resultat, so daß also der größte Prozentsatz der beanstandeten Milchen schon durch diese einfache Gasprobe allein als verdächtig hätte erkannt werden können. Bei 73 von 100 Proben zeigte sich eine Parallele zwischen der Zahl der Kolonien und der Menge des jeweils abgeschiedenen Gases. Mitunter war aber auch Gasbildung zu beobachten, wenn keine Coli aerogenes-Kolonien auf dem Trypaflavin-Agar nachzuweisen waren, und umgekehrt. Nach Verf. muß eine unbedingt deutlich ablesbare Gasmenge vorhanden sein (etwa ½ ccm), um mit Sicherheit die Anwesenheit von Coli aerogenes-Bakterien annehmen zu können. Auf dem Klimmerschen Bromthymolblau-Trypaflavin-Agar, der besser ist als die amtlich vorgeschriebene Modifikation (Runderl. vom 16. Febr. 1932), wuchsen die Coli-Keime in Form typischer, stark gelber (orange-farbener) Kolonien, deren Zentrum dicht und häufig einer Kokarde sehr ähnlich war. Im Gegensatz dazu waren die Aerogenes-Kolonien von vornherein größer, durchsichtiger, von einem helleren Gelb und schleimigerKonsistenz.

Nach mehreren Tagen begannen die Aerogenes-Kolonien vielfach wieder eine blaugrüne Färbung anzunehmen, während sich die gelbe Farbe der Coli-Kolonien verstärkte. Nach diesem Verfahren waren in den beanstandeten Milchen in 10 von 100 Fällen keine Coli aerogenes-Keime aufzufinden, während 74% aller Platten, also die Mehrzahl, einen Coli aerogenes-Gehalt von 1—500 Keimen aufwies. Leider ist von Verf. nicht auch gleichzeitig bei den beanstandeten Milchen eine Bestimmung der Gesamt- und Säurebildner-Keimzahl durchgeführt worden; denn diese ist maßgebend für die Beurteilung dessen, ob sich eine Coli aerogenes-Infektion für die Qualität der Milch ungünstig auswirkt oder nicht. Daß von Verf. keine Beziehungen festgestellt werden konnten zwischen dem Ausfall der Sporogenesprobe nach Weinzirl und der Menge an Coli aerogenes-Bakterien, war auch auf Grund der bereits vorhandenen, auch sonst von Verf. ziemlich stiefmütterlich behandelten Literatur zu erwarten. Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Storck, W., Reduktaseprobe mit Azurufin zur Beurteilung der Frischmilch. (Deutsche Molk.-Ztg. Kempten. Nr. 38. 1936. S. 1417—1419.)

Es wurden vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Methylenblau- und Azurufinprobe zur Frischmilchkontrolle angestellt. Beide Verfahren erwiesen sich als wertvoll; durch sie wird nicht die Menge der Keime, sondern ihre Aktivität erfaßt. Für die Beurteilung der Frische der Milch sind die Verfahren aber nicht in allen Fällen allein ausreichend. Azurufin erwies sich dem Methylenblau gegenüber als brauchbarer. Der Einfluß verschiedener Abänderungen der Methodik auf den Ausfall der Azurufinprobe wurde untersucht. Meewes (Kiel.)

Long, H. F., and Hammer, B. W., Studies on Alcaligenes viscosus. (Iowa Sta. Coll. Journ. of Sci. Vol. 10. 1936. p. 261—265.)

Alcaligenes viscosus (Syn. Bacillus lactis viscosus Adametz) wird häufig gefunden, wenn Milch, Rahm oder andere Milcherzeugnisse schleimig sind. Seine Fähigkeit, Fett zu hydrolisieren, ist jedoch wenigen bekannt. Bei der Suche nach fettspaltenden Bakterien in normaler und anormaler (aber nicht schleimiger) Milch, Rahm und ähnlichen Erzeugnissen wurde eine große Anzahl solcher A. viscosus-Arten isoliert. Die genauere Untersuchung ergab folgendes: Kohlehydrate wurden fast gar nicht angegriffen, alle 36 Kulturen hydrolisierten jedoch Fett, wenn nach der Nilblausulfat-Technik untersucht wurde (mit Baumwollsaatöl, suspendiert in Fleischwasseragar). Alle Kulturen spalteten des weiteren Tributyrin und Triolein, jedoch nicht Trimyristin, Tripalmitin und Tristearin. Die Wirkung war schwankend auf Tripropionin, Tri-Valerin, Tri-Isovalerin, Tricaproin, Triheptylin, Tricaprylin, Tricaprin und Trilaurin. Mit diesem Bakterium beimpfter Rahm war nach 7tägiger Bebrütung bei 21° C ranzig. Das Ausmaß der Ranzigkeit wechselte jedoch mit den verschiedenen Stämmen. Auch in Butter wurde von 3 Kulturen eine deutliche Ranzigkeit verursacht, während 2 andere nur Schleimigkeit hervorriefen, ohne jeden Geschmacksfehler. Weitere 2 Stämme bewirkten überhaupt keine Veränderung. Zur Erzeugung von Acetylmethylcarbinol und Diacetyl war keiner der untersuchten Stämme fähig. Für die nicht-schleimbildenden Stämme von A. viscosus wird von den Verff. der Name Alcaligenes viscosus var. dissimilis

vorgeschlagen. Manche derselben waren jedoch fähig, Schleim zu bilden, wenn sie einige Milchpassagen hinter sich hatten.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Long, H. F., and Hammer, B. W., Classification of the organisms important in dairy products. I. Streptococcus liquefaciens. (Iowa Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 206. 1936. p. 219—251.)

Es wurde als eine besondere Aufgabe der vorliegenden Arbeit betrachtet, bei dem wichtigsten Vertreter der acidoproteolytischen Streptokokken, dem Str. liquefaciens, die beim Eiweißabbau vor sich gehenden Veränderungen genauer zu analysieren; denn diese stehen in enger Verbindung mit erwünschten oder unerwünschten Gärungen in verschiedenen Milcherzeugnissen.

Die Isolierung der Stämme geschah durch Verarbeitung auf Magermilchagarplatten (Hofbildung) mit oder ohne vorhergehende Anreicherung. Sie konnten zwar jederzeit in Milch und in verschiedenen Molkereiprodukten gefunden werden, aber immer nur zu einem sehr geringen Prozentsatz der Gesamtflora, am häufigsten und sichersten jedoch aus reifem Cheddarkäse. Bestimmt wurden von den gewonnenen Reinkulturen die flüchtige Säure, die Kohlensäure, das Acetylmethylcarbinol und Diacetyl, das Ausmaß der Säurebildung, die Art der Milchsäure, die Fettspaltung, der Eiweißabbau in Magermilch und die Hämolyse. Die allgemeine Wirkung der Stämme auf Milch war folgende: Lackmusmilch wurde durch einige Kulturen vor der Koagulierung und durch andere nach der Koagulierung reduziert. Die letztgenannten Stämme waren diesbezüglich dem Str. lactis var. anoxyphilus vergleichbar. Die Koagulierung der Milch war eher eine Labwirkung als eine Wirkung der gebildeten Säure. Die titrierbare Azidität von 15 Kulturen war im Augenblick der Gerinnung 0,27%, während die p_H-Werte durchschnittlich 5,9 betrugen. Der allgemeine Charakter der isolierten 101 Kulturen war gleichartig, abgesehen von der wechselnden Schnelligkeit der Lackmusmilch-Reduktion und dem unterschiedlichen Saccharose-Vergärungsvermögen. Die früher in der Literatur als Micrococcus oder als Str. zymogenes bezeichneten Streptokokken sind als identisch mit Str. liquefaciens zu betrachten. Im speziellen ist folgendes zu bemerken: Nach 7tägiger Bebrütung bei 21° C zeigten die Kulturen untereinander quantitativ ziemliche Unterschiede in der Bildung von flüchtiger Säure, Kohlensäure und Acetylmethylkarbinol in Magermilch. Diacetyl wurde überhaupt durch keine der Kulturen gebildet. Direkte Beziehungen der aufgetretenen Mengen dieser Stoffe untereinander konnten nicht beobachtet werden. Ihre Bildung war bei 37° C allgemein geringer als bei 21° C. Die Zufügung von 0,2 (in einigen Fällen 0,4) Prozent Zitronensäure zu Magermilch im Augenblick der Beimpfung hatte bei 39 der Kulturen eine verminderte Erzeugung von flüchtiger Säure zur Folge, bei 9 Kulturen war das Gegenteil der Fall, aber nur bei 4 Kulturen war diese Steigerung sehr ausgesprochen. Bei diesen allein konnte auch durch Zufügung von Zitronensäure eine Erhöhung der Menge gebildeter flüchtiger Säuren beobachtet werden. Die Zufügung von Azetaldehyd ergab häufiger einen Rückgang der gebildeten flüchtigen Säuren als eine Zunahme. In einigen Fällen konnte beobachtet werden, daß die erhöhte Ernte dann am deutlichsten auftrat, wenn Azetaldehyd erst 14—16 Std. nach der Beimpfung der Magermilch zugefügt wurde. Nach Neutralisierung von 2 gereiften Kulturen zu der Ausgangs-Azidität der Milch und anschließender Bebrütung bei 21° C zeigte sich eher eine Steigerung der Azetylmethylkarbinolbildung als ein Abbau derselben. Keine der untersuchten 5 Kulturen war in der Lage, 2,3-Butylen-Glykol zu bilden. Was die Art der Milchsäure betrifft, so konnte bei den verschiedenen Stämmen sowohl Rechts-Milchsäure als auch Rechts- + inaktive Milchsäure beobachtet werden. Butterfett und Baumwollsaatöl wurde durch keine der 101 Kulturen hydrolisiert, von einigen jedoch Tripropionin und Tributyrin. Bei den 4 Kulturen, bei denen der Eiweißabbau genauer verfolgt wurde, zeigte sich eine große Zunahme des löslichen Stickstoffs in Milch. Im einzelnen ergab sich sowohl eine deutliche Steigerung des Aminostickstoffs als auch derjenigen Fraktionen, die in Trichloressigsäure löslich sind und in Äthylalkohol oder Wolfram-Phosphorsäure löslich und unlöslich sind. Die Proteolyse war zum größten Teil schon nach einer verhältnismäßig kurzen Bebrütungszeit vollendet. Es zeigte sich diesbezüglich kein Unterschied, ob bei 37° oder 21° C bebrütet worden war. Die Langlebigkeit des Str. liquefaciens ist viel größer als diejenige des Str.

lactis (Dicklegung von Lackmusmilch innerhalb 24 Std. bei 37° C bei direkter Beimpfung mit einer Kultur, die 2½ Jahre bei 5° C im Eisschrank stand). Die Hitzeresistenz der einzelnen Stämme zeigte eine ziemliche Variabilität; eine Abtötung erfolgte jedoch bei allen Kulturen innerhalb 40 Min. bei 65,6° C. Bei der Käsereifung sind die von Str. liquefaciens gebildeten weniger komplexen Eiweißverbindungen erwünscht und das ziemlich regelmäßige Vorkommen dieser Organismen in Cheddarkäse steht sicher in irgendeiner Beziehung zu der Reifung. Die mehr komplexen Eiweißabbauprodukte dürften aber die Ursache von Bitterkeit sein, infolgedessen ist auf alle Fälle das zu reichliche Vorkommen dieser Organismen entschieden als unerwünscht zu betrachten.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Bendixen, H. A., A study of the churn cleaning methods used by plants producing butter of various yeast and mold counts. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 20. 1937. p. 15—25.)

17 Molkereien von Washington stellten ihre Butter für die monatliche Untersuchung zur Verfügung unter Angabe der bei ihnen gebrauchlichen Butterfaß-Reinigungsmethoden. Die Bestimmung der Pilz- und Hefekeimzahl wurde durchgeführt durch Verimpfung von $^1/_{10}$ ccm Butter in Bakto-Malz-Agar und Bebrütung bei 21° C während 5 Tagen. Die Geschmacks- und Geruchsprüfung erfolgte in frischem Zustand sowohl als auch nach einmonatlicher Lagerung bei 2,2—4,4° C. Die Ergebnisse in der Zeit von 14—28 Monaten waren folgende: Das ständige Auftreten niedriger Pilz- und Hefezahlen bei ganz bestimmten Buttereien war ein Beweis dafür, daß dort die Methoden der Butterfaßbehandlung in Ordnung waren. Die Untersuchung der bei diesen Buttereien durchgeführten Reinigungs- und Desinfektionsmethoden ließ folgende Punkte als wesentlich erscheinen: 1. Der Gebrauch von genügender Menge Waschwasser ($^1/_3$—$^1/_2$ des Fassungsvermögens des Butterfertigers). 2. Eine hohe Temperatur des Waschwassers (82—93° C). 3. Der Gebrauch von 0,1—0,2 proz. Reinigungslösung zur Entfernung des Fettes, zur Unterstützung der keimtötenden Kraft und zur Verbesserung des Butterfaßgeruchs. 4. Das Waschen oder Ausspülen mit einer alkalischen kristallinischen Hypochloritlösung (mit 50 Teilen verfügbaren Chlors pro Million), zugleich kombiniert mit Heißwasserbehandlung gibt ebenfalls gute Resultate. 5. Halten und Umwälzen des heißen Wassers im Butterfertiger während mindestens 15 Min.

Bei den weniger günstig abschneidenden Buttereien war es natürlich möglich, daß die schlechteren Resultate nicht bloß mit ungenügender Butterfaßreinigung, sondern auch mit anderen Faktoren zusammenhingen. Immerhin berichteten 5 dieser Buttereien, daß sie das Butterfaß unmittelbar nach dem Reinigen mit kaltem oder höchstens lauwarmem Wasser nachspülen. Dieses Verfahren ist unzweckmäßig, weil hierbei das Butterfaß nicht rasch genug trocknet und infolgedessen das Wachstum von Mikroorganismen begünstigt wird. In 3 anderen Molkereien wurde beim Waschen zu wenig heißes Wasser verwendet, infolgedessen kühlte das Wasser zu rasch ab, wodurch sich die keimtötende Wirkung verminderte. In 4 Buttereien blieben die Butterfässer mit dem heißen Wasser nur 5 Min. lang in Kontakt, was als zu kurz anzusehen ist. Eine Molkerei endlich führte die Dampfsterilisation durch und erzielte damit keine günstigen Ergebnisse. Beziehungen zwischen der Qualität und Haltbarkeit der Butter nach einmonatlicher Lagerung und der Pilz- und Hefeinfektion ergaben sich bei einzelnen Proben aus bestimmten Molkereien nicht, wohl aber, wenn die Butterproben in Gruppen zusammengefaßt wurden. Es zeigte sich dann eine Übereinstimmung der Höhe des durchschnittlichen Pilz- und Hefekeimgehalts mit der durchschnittlichen Qualitätsverminderung der einzelnen Buttergruppen, sowohl in frischem wie in gelagertem Zustand. — Alles in allem geht aus diesen Untersuchungen hervor, daß viele der Buttereien eine größere Einnahme aus der Butterfabrikation haben könnten, wenn sie sich gewissenhafter mit der Reinigung des Butterfertigers befassen würden.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Scharif'jan, S. A., Zur Frage über die Methoden zur Bonitierung der Butterqualität. (Milchindustrie UdSSR. Bd. 5. 1936. S. 24—26.) [Russisch.]

Es wurden unter Benutzung der vom Verf. vorgeschlagenen Methode zur Bestimmung der Reduktase in Butter 10 verschiedene Mikroorganismenarten auf ihre Fähigkeit, Reduktase und Katalase in Butter zu bilden, untersucht. Str. lactis erwies sich als unfähig, Katalase zu bilden, holländische Hefe bildete nur geringe Mengen davon. Weiter wurde

festgestellt, daß diese beiden Mikroorganismenarten die Entwicklung der übrigen in Butter herabsetzen. M. Gordienko (Berlin).

Suruchanjan, F. G. und **Erzinkjan, L. A.**, Die Anwendung milchsaurer Bakterien (Str. lactis) in der Butterfabrikation. [Arbeit. d. Milchwirtschaftl. Versuchslaboratoriums Armeniens.] (Die Milchindustrie UdSSR. Bd. 8. 1936. S. 33—34.) [Russisch.]

Die Anwendung reiner Kultur milchsaurer Bakterien bei der Butterfabrikation erhöht die Butterqualität sowie den Geschmack und die Aufbewahrungsfähigkeit bedeutend. Es sind flüssige und trockene Grundformen reiner Kulturen milchsaurer Bakterien bekannt. Das Arbeiten mit aus verschiedenen Milchprodukten (Milch, Sahne usw.) gewonnenen und niedrige Temperatur vertragenden flüssigen Kulturen des Str. lactis war insofern vorteilhaft, als im Betrieb Wärmeenergie und Arbeitskraft gespart wurde. Außerdem erwiesen sich die niedrige Temperatur (11—15° C) vertragenden Rassen des Str. lactis aromabildender als die auf höhere Temperatur (25—30° C) angewiesenen. Besonders gut waren in dieser Beziehung die aus „Matzun" (kaukasische Art Sauermilch) gewonnenen Rassen. Allgemein waren flüssige Kulturen aromabildender als trockene, was sich durch die Schwächung der Aktivität der Mikroorganismen beim Trocknen erklären läßt.
M. Gordienko (Berlin).

Lane, C. B., and **Hammer, B. W.**, The manufacture of blue cheese (Roquefort type) from homogenized milk. (Iowa Sta. Coll. Journ. of Sci. Vol. 10. 1936. p. 391—394.)

Es zeigte sich, daß die Homogenisierung von Kuhmilch gewisse Verbesserungen mit sich bringt in dem Sinne, daß Blauschimmel-Käse aus homogenisierter Milch in verhältnismäßig kurzer Zeit reifen und regelmäßig auch eine weiße Farbe besitzen, durch die auch die französischen Roquefortkäse aus Schafmilch ausgezeichnet sind. Weiterhin ist die Struktur ungewöhnlich zart, so daß der Käse leicht mit einem Messer geschnitten werden kann. Inwieweit sich der so hergestellte Blauschimmel-Käse für längere Zeit als haltbar erweist, sollen weitere Untersuchungen zeigen.
Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Rogers, L. A., and **Evans, F. R.**, Cleaning dairy equipment with trisodium phosphate. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 19. 1936. p. 733—738.)

Die Arbeit befaßt sich hauptsächlich mit der Reinigung und Sterilisierung von Zentrifugen und Melkmaschinen. Als sehr wirksames Reinigungsmittel wurde Trinatriumphosphatlösung ausprobiert, die bei einem Gehalt von 5% ein p_H von ungefähr 11,0 besitzt. Eine Zentrifuge kann damit in bakteriologisch gutem Zustande erhalten werden, und zwar in der Weise, daß man nach jedem Zentrifugieren die Maschine auseinandernimmt, die Einzelteile in Leitungswasser abspült und dann in die Trinatriumphosphatlösung legt. Vor dem Gebrauch werden die Teile wieder aus der Lösung herausgenommen, mit Leitungswasser abgespült und zusammengesetzt. Die etwas korrodierende Wirkung der 5proz. Trinatriumphosphatlösung wird gemildert durch die Zugabe von 0,15% Natriumchromat, so daß also die Zusammensetzung der endgültigen Gebrauchslösung folgende ist: Trinatriumphosphat 50 g, Natriumchromat 1,5 g und Wasser 1000 g. Die Eigenart der Melkmaschine verlangt eine etwas andere Behandlungsweise. Nach jedem Melken wird die Maschine mit sauberem Wasser durchspült, alle Teile einschließlich der Schläuche und Zitzenbecher, den Eimer selbst ausgenommen, werden in die geschilderte Trinatriumchromatlösung gelegt. Unmittelbar vor Gebrauch werden diese Teile mit abgekochtem Wasser gespült und wieder zusammengesetzt. Wenn die Lösung alle 8 Tage erneuert wird, erhält man nach diesem Verfahren ein wesentlich besseres Ergebnis als mit den üblichen Chlordesinfektions-

mitteln. Auch für die Reinigung und Sterilisierung von Homogenisierapparaten eignet sich die angegebene Lösung sehr gut.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Boysen, O., Über die Mikroflora des Wilstermarschkäses und ihre Entwicklung während des Reifens. Inaug.-Diss. Kiel. (Milchwirtsch. Forschg. Bd. 18. 1936. Heft 3.)

In allen Reifungsstadien des Wilstermarschkäses herrschen Milchsäurebakterien, vor allem Str. lactis in überwiegender Zahl vor. Streptobakterien traten frühestens nach 14 Tagen auf und nahmen dann zahlenmäßig langsam zu. Mikrokokken waren nur in 1—2 Tage alten Käsen in größerer Menge vorhanden. Bact. coli commune trat niemals auf. Milch, die mit Bact. lactis aerogenes infiziert wurde, führte zu blähenden Käsen, wobei die Bakterien im reifenden Käse sehr bald abstarben. — Verf. beschreibt an Hand der Hennebergschen Deckglaspetrischalenkultur die Entwicklung der für die Reifung wichtigsten Bakterienarten. — Str. lactis zeigte nur geringes Eiweißabbauvermögen. Als Ursache des „laffigen" Geschmacks sieht Verf. das gehäufte Auftreten von Bact. coli commune an. Meewes (Kiel).

Bogdanow, W. M., Säurewecker in Betrieben. (Die Milchindustrie UdSSR. Bd. 8. 1936. S. 34—35.) [Russisch.]

Zum Buttern findet in UdSSR. in den meisten Betrieben ein Säurewecker Anwendung, der folgende Bakterienarten enthält: Str. lactis, Str. cremoris und aromabildende Bakterien (wie Str. paracitrovorus bzw. Str. citrovorus). Die günstigste Temperatur für den Säurewecker beträgt 20—22° C, bei hohen Temperaturschwankungen büßt er an Qualität leicht ein. M. Gordienko (Berlin).

Lembke, A., Die bakteriologische Prüfung von Milcherhitzern unter Verwendung des Normalerhitzers als Vergleichsmaßstab. (Molk. Ztg. Hildesheim. Nr. 78. S. 2403—2406. 1936.)

Die Grundlagen der Prüfung von Milcherhitzungsapparaten werden besprochen. Eine Keimverminderung sagt nur dann etwas über die Wirkung eines Erhitzers aus, wenn stets Milch von gleicher bakteriologischer und chemischer Beschaffenheit verwendet wird. Da Rohmilch einen sehr schwankenden Keimgehalt aufweist, wurde sie bislang mit Colikeimen bestimmter Hitzeresistenz beimpft. Nach neueren Untersuchungen ist diese Widerstandsfähigkeit jedoch nicht konstant, womit die Grundlage der bisherigen Untersuchungsmethodik erschüttert ist. Daher schlägt Verf. vor, einen Normalerhitzer als Grundlage zur Prüfung anderer Hoch- und Kurzzeiterhitzungsapparate zu verwenden. Der Normalerhitzer kann „geeicht" werden mit verschiedener Milch, wie sie während des ganzen Jahreszyklus von der Meierei angenommen wird.

Zwecks Prüfung eines Milcherhitzers wird dieser parallel mit dem Normalerhitzer untersucht, bei Verwendung derselben Rohmilch. Die Bewertung erfolgt durch Vergleich der erzielten Coli- und anderer Keimverminderungen mit den im Vergleichsversuch ermittelten Werten. — Die Methodik wird näher beschrieben. Meewes (Kiel).

Denison, G. A., Epidemiology and symptomatology of Staphylococcus food poisoning. A report of recent

outbreaks. (Amer. Journ. of Publ. Health. Vol. 26. 1936. p. 1168—1175.)

Lebensmittelvergiftungen infolge Vorhandenseins von Staphylokokken können, abgesehen von Backwaren, Saucen, Salaten und belegten Brötchen, auch durch Milch und Molkereierzeugnisse (Käse) verursacht werden. Ein besonders interessanter Fall aus der neuesten Zeit betrifft die Erkrankung von 94 Personen nach Genuß von mit Rahm gefülltem Blätterteig. 2—4 Std. nach dem Genuß trat bei den Erkrankten Schwindel auf, dann folgten Unterleibskrämpfe und Erbrechen in Abständen von 5—20 Min. während 1—8 Std. sowie Durchfall. Nach 8 Std. waren in der Regel die Anfälle beendet. In all den untersuchten Proben konnte Staphylococcus aureus nachgewiesen werden, desgleichen auch Bact. coli. Eine Besichtigung des betreffenden Betriebes ergab sehr unhygienische Zustände. Der Rahm war außerdem ungenügend sterilisiert worden und die Aufbewahrung der fertigen Blätterteigwaren fand bei Temperaturen statt, die für das Wachstum von Bakterien günstig waren.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Saruchan'jan, F. G. und **Erzink'jan, L. A.**, Die Mikroflora und Fabrikation von „Matzun" auf reinen Kulturen. (Die Milchindustrie UdSSR. Bd. 8. 1936. S. 31—33.) [Russisch.]

„Matzun" ist ein diätisches, saures Milchprodukt in Transkaukasien. Die Untersuchung seiner Mikroflora erwies das Vorhandensein von folgenden Bakterienarten: Str. lactis (bis 72%), Matzun-Stäbchen (bis 25%), Hefe (1—2%) u. a. Matzun-Streptokokken zeichnen sich durch die Fähigkeit, Milch zu gerinnen, auf Fleischpepton gut zu wachsen, sowie durch ihr hohes Aroma aus. Von Matzun-Stäbchen gibt es verschiedene Stämme, die sich nach ihren morphologischen Merkmalen sowie nach der Energie der Säurebildung ziemlich voneinander unterscheiden. Die durchschnittliche Länge der Matzun-Stäbchen beträgt 2—20 μ, die Breite 0,3—1,0 μ; sie sind meist anaerob, entwickeln sich gut bei einer Temperatur von 35—42° C und bilden sternartige Kolonien. Die Säurebildung geht bis zu 150—300° Th. Als beste Kombination zur Matzun-Herstellung erwies sich folgende: 25% Str. lactis + 25% Matzun-Stäbchen + 50% Hefe auf Sauermilch.

M. Gordienko (Berlin).

Hansen, A. und **Lund, A.**, Über pH-Messungen in gärender Bierwürze. (Wschr. f. Brauerei. Bd. 53. 1936. S. 409—412.)

Da es sich gezeigt hat, daß die elektrometrischen Messungen des pH in gärender Bierwürze, wenn sie von verschiedenen Laboratorien ausgeführt werden, nicht immer übereinstimmende Ergebnisse liefern, haben Verff. nach Studium aller in Betracht kommenden Faktoren eine Arbeitsvorschrift für die Messung mit der Chinhydronelektrode ausgearbeitet. Zunächst müssen die Hefezellen durch Filtration oder Zentrifugieren entfernt werden. Zur Filtration hat sich säurebehandeltes, aschefreies Filtrierpapier als gut geeignet erwiesen, da es im Gegensatz zu unbehandeltem Filtrierpapier nicht auf die Wasserstoffionenkonzentration der Würze einwirkt. Weiter muß das Kohlendioxyd der Würze entfernt sein, was am besten durch Durchblasen eines Luft- oder Stickstoffstroms geschieht, wenige Tropfen Äthylalkohol werden zur Verhinderung von Schaumbildung zugesetzt. Besonders in den ersten Gärungsstadien, wo das pH relativ hoch liegt, ist die Kohlensäure auf Grund ihrer stärkeren Dissoziation imstande, beträchtliche pH-

Senkungen hervorzurufen. Die p_H-Ablesung muß im Zeitraum von 3—4 Minuten bis 7—9 Minuten nach dem Chinhydronzusatz zur Würze gemacht werden. In dieser Zeit hält sich die Spannung konstant. Nach etwa 8 Minuten verändert sich das p_H der Flussigkeit. Die Platinelektrode ist der Goldelektrode vorzuziehen. Heuß (Berlin).

Fink, H., Beiträge zum Futterhefenproblem. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 53. 1936. S. 385—388, 396—400.)

Für den Ersatz fehlenden Eiweißes kommt der Erzeugung von Futterhefe aus Kohlehydraten und Nährsalzen erhebliche Bedeutung zu. Im Vergleich zur Melasse, die im Weltkrieg verwendet wurde, stellt Holzzucker ein wesentlich ungünstigeres Nährsubstrat dar. Wegen eines nur sehr geringen Stickstoffgehaltes spielt das Problem der Stickstoffernährung der Hefe in diesem Fall eine besondere Rolle. Da die Verwendung von wertvollem organischen Stickstoff nach Möglichkeit vermieden werden sollte, war zunächst zu untersuchen, mit welchen Mindestmengen an organischen Stickstoffverbindungen die Züchtung von Futterhefe in technischem Maßstab noch möglich ist, wenn sonst nur anorganische Salze, insbesondere Ammoniakverbindungen, dem Holzzucker zugesetzt werden. Sowohl durch Laboratoriumsversuche, als auch durch die geglückte Übertragung derselben in den technischen Maßstab konnte gezeigt werden, daß man Futterhefe mit Holzzucker nach Bergius und nach Scholler mit nur mineralischen Zusätzen in guter Ausbeute gewinnen kann. Ein noch billigeres Ausgangsmaterial stellt die Sulfitablauge dar. Auf 100 kg Holztrockensubstanz berechnet wurden erhalten: nach dem Schollerverfahren 12.2, nach dem Bergiusverfahren 16.1 kg Eiweißtrockensubstanz.

Der verwendete Organismus — Torula utilis — gewöhnte sich ohne Schwierigkeiten an den Entzug jeglicher organischer Stickstoffe, in monatelanger Dauerzüchtung trat auch keinerlei Infektion der Ansätze auf. Die Holzzuckerwürze enthält offenbar wirksame Bakteriengiftstoffe, auch scheint den Infektionsorganismen die primitive Stickstoffernährung nicht zuzusagen.

Der Proteingehalt der erzeugten Futterhefe bewegte sich zwischen 50—60% in der Trockensubstanz, übertrifft also den von Bierhefe um 10—15%. Heuß (Berlin).

Baier, C. R., Über eine Flagelleninfektion in einer Hefenrohkultur. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. 88. H. 1. 1936. S. 27—35.)

Verf. beschreibt eine Flagellatenart, die als Masseninfektion in einer synthetischen Hefenährlösung in einer Futterhefefabrik auftrat. Die Flagellaten ernährten sich vorwiegend von Hefezellen, die manchmal einen größeren Durchmesser als die Tiere selbst haben konnten. Auf Grund des vorliegenden Untersuchungsmaterials ließ sich nicht feststellen, ob es sich bei dem Flagellat um eine neue Art handelte. Meewes (Kiel).

Allen, L. A., and Harrison, J., A comparative study of Lactobacilli from grass silage and other sources. (Ann. of Appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 546—557.)

Die untersuchten 152 Milchsäure-Langstäbchen-Stämme waren aus sechs verschiedenen Arten von Grassilage isoliert worden (Frühjahrs-Silage, Herbst-

Silage, Molken-Silage, Melasse-Silage, angesäuerter Melasse-Silage, A.J.V.-Silage). Weitere 5 Stämme wurden zu Vergleichszwecken aus Cheddarkäse, Weichkäse und ägyptischer fermentierter Milch isoliert. Abgesehen von der Lackmusmilchprobe in gewöhnlicher Form und mit verschiedenen Zusätzen (Hefeextrakt, Glukose, Hefeextrakt + Glukose) wurden die Stämme auch auf die Vergärbarkeit verschiedener Kohlehydrate untersucht (bei 19 Stämmen auch auf die aus Glukose gebildeten Stoffwechselprodukte). Es zeigte sich, daß die Mehrzahl der in 3—5 Monate alter Grassilage vorkommenden Langstäbchen zu der Art Streptobacterium plantarum gehört. Diese ist durch eine verhältnismäßige Inaktivität in gewöhnlicher Lackmusmilch ausgezeichnet, wird aber im Wachstum merklich stimuliert, wenn dieser Hefeextrakt zugesetzt wird. Aus Glukose wird in der Hauptsache inaktive Milchsäure und nur eine geringe Menge von Essigsäure gebildet. Ein Stamm wurde auch gefunden, der nur d-Milchsäure bildet und in Milch sehr gut wächst (wahrscheinlich mit Orla-Jensens Streptobact. casei identisch). Ein weiterer Stamm bildete auch Alkohol und sehr viel flüchtige Säure (Orla-Jensens Gattung Betabacterium, zu der auch der Lactobacillus pentoaceticus gerechnet werden muß). Durchweg fanden sich jedoch bei allen Stämmen große Unterschiede in der Fähigkeit, Kohlehydrate abzubauen. — Von den 5 Stämmen, die aus Molkereiprodukten isoliert worden waren, konnten 3 zum Typ Streptobacterium plantarum gerechnet werden, die 2 übrigen waren typische Milchstämme.

Karl J. Demeter (München-Weihenstephan).

Manin, I., Das Silieren der Pflanzen mit vermindertem Feuchtigkeitsgehalt. [Arbeiten der Versuchsstation f. Tierzucht Kujbyschewskaja.] (Die soz. Tierzucht. Bd. 9. 1936. S. 69—71.) [Russisch.]

Das Studium der Dynamik der Mikrofloraentwicklung in siliertem Wicken-Hafer-Gemenge mit vermindertem Feuchtigkeitsgehalt (Abwelcken nach dem Schnitt) zeigte, daß diese anfänglich sehr stark vor sich geht, später aber (nach einigen Tagen) nachläßt. Dies betrifft vor allem Buttersäure- und gasbildende Bakterien, so daß der Silierungsprozeß der nach dem Schnitt abgewelckten Grünmasse unter günstigeren Bedingungen verläuft, als der unmittelbar nach dem Schnitt in Silobehälter eingebrachten. In der Silagemasse mit erhöhtem Feuchtigkeitsgehalt geht der Zerfall der Eiweißstoffe bedeutend stärker vor sich und der Verlust an Trockensubstanz stellt sich viel höher als in der mit normalen bzw. mit verminderten Feuchtigkeitsmengen.

M. Gordienko (Berlin).

Ludwig, C. A., and Allison, F. E., Some factors affecting nodule formation on seedlings of leguminous plants. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 27. 1935. p. 895—902.)

Versuche mit Medicago sativa und Soja max in beimpften Sandkulturen ergaben, daß ältere Pflanzen derselben Arten sowie auch von Triticum sativum und Zea mais die Knöllchenbildung begünstigten, wenn auch diese Wirkung nicht regelmäßig und nicht in der gleichen Stärke festzustellen war, wie sie von anderer Seite beobachtet worden ist. Der gleiche Erfolg ließ sich durch Zugabe von Rohrzucker erreichen, während aufnehmbarer Stickstoff in kleinen Mengen auch günstig wirkte, in großen die Knöllchenbildung aber herabsetzte. Kalte wäßrige Auszüge von Sand,

in dem Luzerne, Mais- und Weizensämlinge gewachsen waren, hatten keinen Einfluß auf die Knöllchenbildung. Die günstige Wirkung der älteren Pflanzen führen Verff. auf die Beeinflussung der Rhizosphäre und die dadurch bedingte Befreiung von Stoffen, die für das Bakterienwachstum wesentlich sind, aus den Wurzeln zurück. Braun (Berlin-Dahlem).

Duggar, J. F., Nodulation of peanut plants as affected by variety, shelling of seed and disinfection of seed. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 27. 1935. p. 286—288.)

Die Knöllchenbildung an Arachis hypogaea ist ganz verschieden je nachdem, ob es sich um die spanish oder um die runner Varietät handelt. Im ersten Fall konnte Verf. im Durchschnitt je Pflanze 11, im letzten Fall 127 Knöllchen feststellen. Bei der „runner"-Varietät konnte durch künstliche Impfung deshalb auch keine günstige Einwirkung erzielt werden. Geschälte und nicht geschälte Samen zeigten keinen Unterschied in der Knöllchenbildung. Impfung steigerte die Zahl der Knöllchen bei den letzteren bedeutend stärker als bei den ersteren, was Verf. auf die größere Menge von Impfstoff zurückführt, der durch die rauhe und größere Oberfläche in den Boden gebracht wird. Eintauchen in verschiedene Saatbeizmittel setzte Keimung und Knöllchenbildung herab. Braun (Berlin-Dahlem).

Agronomow, E. A., Bundel', A. A., Gorjačich, A. N. und Korenew, N. A., Beiträge zur Frage von der Selbsterhitzung des Korns. [Aus den Arbeiten des Zentrallaboratoriums der Staatlichen Getreideinspektion.] (Bot. Ztschr. UdSSR. Bd. 2. 1936. S. 196—205.) [Russisch.]

Selbsterhitzung des Korns wird hauptsächlich durch Entwicklung von Bakterien in Verbindung mit der Schimmelpilzgattung Penicillium hervorgerufen. Andere Arten von Schimmelpilzen spielen dabei keine große Rolle. Die Keimfähigkeit des Korns bei Selbsterhitzung hängt von seiner Infizierung mit Mikroorganismen ab. Die Zuckermenge nimmt stark mit Steigen der Selbsterhitzung zu, auch die Azidität des Korns hängt von der Temperatur, der Selbsterhitzung sowie vom Schädigungsgrad des Korns ab. M. Gordienko (Berlin).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Waksman, S. A., and Hutchings, I. J., Decomposition of lignin by microorganisms. (Soil Science. Vol. 39. 1936. p. 119—130.)

Bei der Verrottung von Haferstroh wurde das Lignin von allen darin enthaltenen Stoffen am langsamsten abgebaut. Durch Zusatz von organisch oder anorganisch gebundenem N wurde der Ligninabbau nicht unerheblich beschleunigt. Durch Behandlung mit salzsäurehaltigem Phenol wurde aus dem Stroh ein Ligninpräparat hergestellt, das ebenfalls durch Mikroorganismen zersetzt wurde, im Gegensatz zu allen sonstigen Ligninpräparaten, die dem Angriff außerordentlich widerstehen. Das „Phenollignin" wurde in Alkohol oder Azeton aufgelöst, sodann in Wasser gegossen, und anschließend wurde das organische Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Dem ligninhaltigen Wasser wurden darauf die Nährsalze, der N in Form von Kasein oder $(NH_4)_2HPO_4$, zugesetzt. Die darin eingebrachten Bakterien und Pilze zersetzten das Lignin nur langsam. Besonders dazu befähigt zeigten sich einige nicht näher identifizierte Fusarium- und Alternaria-Arten.

Ein Teil des Lignins wurde bis zu CO_2 abgebaut, der weit größere Teil aber offenbar zum Aufbau von Zellsubstanz verwendet. Zwischenprodukte der Ligninzersetzung wurden nicht beobachtet. Engel (Münster i. W.).

Krasil'nikow, N. A., Lokale Verbreitung der Mikroorganismen im Boden. (Ber. d. Akad. d. Wiss. UdSSR. Bd. 1. 1936. S. 193—214.) [Russisch.]

Der Artbestand der Mikroflora im Boden hängt von der Zusammensetzung seiner organischen Substanz ab. Er wechselt mit dem Stadium des Zerfalls der organischen Bodensubstanz. Pepton wird im Boden anfänglich durch sporenlose, z. T. aber auch durch sporentragende Bakterien zersetzt; später entwickeln sich in peptonhaltigem Boden Aktinomyzeten, Mikrokokken und andere Bakterienarten. Der Zerfall der Zellulose (durch zellulosezersetzende Bakterien) fördert die Entwicklung der sporenlosen Bakterien, die dann durch Aktinomyzeten und z. T. auch durch Pilze verdrängt werden. Beim Vorhandensein von Sulfaten und Chloriden im Boden (in einer Konzentration von 0,5% und darüber) entwickeln sich vorwiegend Mikrokokken, Aktinomyzeten und sporentragende Bakterien. Jedoch nimmt die Gesamtzahl der Mikroben bei der genannten Konzentration sehr ab, vor allem die Zahl der sporenlosen Bakterien. Die letzteren entwickeln sich sehr stark beim Vorhandensein im Boden von leicht assimilierbarer organischer Substanz. Diese Bakteriengruppe überwiegt im Boden meist nach der Gabe von organischen Düngemitteln. Nachdem aber ein Teil leicht assimilierbarer organischer Substanz verbraucht wird und an der betreffenden Stelle sich viele Stoffwechselprodukte der Bakterien anhäufen, entwickeln sich dort andere Bakterienarten, und der gesamte Prozeß der Umwandlung der organischen Bodensubstanz wird in andere Richtung gelenkt.

M. Gordienko (Berlin).

Isačenko, B. L. und Simakowa, T. L., Bakteriologische Untersuchungen arktischer Böden. (Arbeiten des Arktischen Instituts. Bd. 9. 1934. S. 107—124.) [Russisch.]

Das Studium der Mikroorganismen in arktischen Böden (Insel Franz-Joseph-Land im nördlichen Eismeer) zeigte, daß dort Bakterienrassen unserer geographischen Breiten vorhanden sind, die sich an tiefe Temperatur anpassen. Da auf den Inseln noch niemals Menschen gewesen sind, wird die Vermutung ausgesprochen, daß die Bakterien durch Vögel hergetragen wurden. Auf Grund der Untersuchungen kommen Verff. zu dem Schluß, daß im weiten Norden alle Bedingungen für die Bodenbildungsprozesse vorhanden sind, jedoch verlaufen dort diese viel langsamer als in unseren geographischen Breiten. M. Gordienko (Berlin).

Schmalfuß, K., Über die Wirkung des Kalkstickstoffs und anderer Stickstoffdünger auf die biologische Tätigkeit des Bodens. (Bodenkunde u. Pflanzenernährung. Bd. 2 [47]. H. 1/2. 1936. S. 110—120.)

Versuche bezweckten, die Nitrifikation des Kalkstickstoffs im Vergleich zu Harn, Ammonsulfat und Kalziumnitrat sowie die Wirkung dieser Stickstoffdünger auf Keimgehalt und Kohlensäureproduktion in verschiedenen Böden (leichte, schwere, sauere bis alkalische) zu studieren. Durch die Kalkstickstoffgabe wurde die Bodenatmung bei allen Bodentypen ganz bedeutend erhöht. Die Nitrifikation von Harnstoff und Ammonsulfat verlief in allen

Böden leicht, die vom Kalkstickstoff aber sehr langsam (mit Ausnahme von sehr humusreichem Boden). Durch die Gaben von Harnstoff, $(NH_4)_2SO_4$ und $Ca(NO_3)_2$ erfuhr die Keimzahl im Boden keine nennenswerte Änderung, durch die von Kalkstickstoff wurde die Keimzahl um das 2—3fache erhöht.

M. Gordienko (Berlin).

Wimmer, G. und Lüdecke, H., Über den Einfluß von Wirtschafts- und Düngungsmaßnahmen auf den Gehalt des Bodens an Rübennematodenzysten. (Zeitschr. d. Wirtschaftsgruppe Zuckerindustrie [Techn. Teil]. Bd. 86. 1936. S. 583—659.)

Verff. stellten sich die Aufgabe, zu ermitteln, wie stark sich zahlenmäßig der Verseuchungsgrad unter dem Einfluß von Düngungs- und Fruchtfolgemaßnahmen vermindert. Zunächst wurde eine erhebliche Zunahme der Gesamtzystenzahl im Frühjahr gegenüber einer Probeentnahme im Herbst auf denselben Teilstücken beobachtet. Es ist hierbei gleichgültig, welche Düngung der Boden erhalten und welche Versuchsfrucht er getragen hat. Eine Steigerung an mit Brut gefüllten Zysten war zu beobachten, wenn die Versuchsfrucht keine Zuckerrüben waren. Bei diesen konnte allerdings im Untergrund (25—50 cm tief) ebenfalls eine Vermehrung von Zysten mit lebendem Inhalt nachgewiesen werden. Dagegen veränderte sich der prozentuale Anteil an „vollen" Zysten auf allen nicht mit Zuckerrüben bestellten Feldern zu beiden Untersuchungsterminen nur unerheblich; bei Zuckerrüben trat sogar eine Abnahme im Frühjahr ein. Die Ursache für diese Schwankungen steht noch nicht fest. An Hand reichhaltigen Untersuchungsmaterials ließ sich ein klarer Einfluß der Düngung auf den Grad der Verseuchung durch Nematoden weder für Handelsdünger, noch für Stallmist oder für Gründüngung allein oder in Verbindung mit Handelsdünger bei Probeentnahme aus der Krume oder aus dem Untergrund ermitteln. Es besteht demnach keine Befürchtung, durch besonders starke Gaben an N, K, P_2O_5 mit oder ohne Stalldung oder mit Gründüngung die Vermehrung der Nematoden zu fördern. Bodenbearbeitung scheint dagegen auf den Grad der Verseuchung einen Einfluß auszuüben. So wirkte sich langes Stehenlassen der Stoppel auf die Zystenvermehrung sehr günstig aus. An Hand von Dauerversuchen mit verschiedenen Fruchtfolgesystemen konnte nachgewiesen werden, daß die „Einfelderwirtschaft" die geringste Verseuchung aufzuweisen hat. Ihr folgt die „Dreifelderwirtschaft" ohne Rüben, während zwischen „Zweifelderwirtschaft" mit Rüben und „Vierfelderwirtschaft" mit Rüben keine großen Unterschiede im Verseuchungsgrad bestehen. Will man daher ein mit Nematoden verseuchtes Feld ohne künstliche Mittel weitgehend entseuchen, so muß man unbedingt mehrere Fruchtfolgen hintereinander den Anbau von Rüben aussetzen.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Castellani, E., Action de quelques formes microbiennes en culture pure sur l'absorption polaire du sol. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 8. 1936. p. 197—201.)

Verf. konnte schon in früheren Veröffentlichungen zeigen, daß die Mikroorganismen am Basenaustausch zwischen Bodenlösung und sorbierenden Komplexen wesentlich beteiligt sind. In der vorliegenden Mitteilung berichtet er nun über Untersuchungen zur Frage, wieweit verschiedene Reinkulturen von Pilzen und Bakterien den Gehalt eines Bodens an wasserlös-

lichem und austauschbarem Kalzium beeinflussen. Die Arbeiten führten zu der praktisch wichtigen Erkenntnis, daß im Boden offenbar eine Mikroflora tätig ist, die ständig die sorbierten Kalziummengen erhöht, und eine solche, die das Gegenteil bewirkt. Verf. meint, daß durch einseitige Begünstigung bestimmter Teile der Bodenmikroflora durch Daueranbau einer Kulturpflanze ohne Fruchtwechsel das gesunde Gleichgewicht zwischen austauschbarem und wasserlöslichem Kalzium verschoben und dadurch Bodenmüdigkeit verursacht werden kann. So soll auch die durch Khudiakow angegebene Bekämpfung der von Fusarien verursachten Leinmüdigkeit durch Impfung des Bodens mit bestimmten Bakterien möglicherweise z. T. auf einer Korrektur dieses durch die Massenvermehrung der Fusarien gestörten Gleichgewichts beruhen. Bortels (Berlin-Dahlem).

Obrazcowa, A. A., Mikroorganismen der Rhizosphäre in der Roterde im Batumgebiet. (Ber. d. Akad. d. Wiss. UdSSR. Moskau. Bd. 1. 1936. S. 255—275.) [Russisch.]

Die sauere Reaktion zeigende Roterde verfügt über keine großen Mikroorganismenmengen. Die letzteren häufen sich meist um die Wurzelsysteme der Pflanzen oder dort, wo mehr Humusstoffe vorhanden sind. Es wurden im ganzen etwa 100 verschiedene Bakterienarten festgestellt, wobei folgende Typen dominierten: Bac. mycoides Flügge (27 Stämme, schmale und breite Formen), Bac. subtilis Cohn (17 Stämme), Bac. megatherium De Bary (2 Stämme), Bact. terminalis Migula (9 Stämme), Aktinomyzeten, Pilze (Penicillium, Sardaria, Trichoderma, Sporotrichum) u. a. M. Gordienko (Berlin).

Charitonowa, L. P. und Jelina, M. Ja., Biochemische Prozesse in den mit Torf bereicherten Böden. (Arbeiten des Allrussischen Inst. f. Torfwirtschaft. Bd. 9. 1934. S. 60—73.) [Russisch.]

Versuche zeigten, daß die Torfeinbringung in den Boden Denitrifikationsprozesse in diesem nicht erhöhte. Die NO_3-Menge war in dem mit Torf angereicherten Boden etwas höher als in dem nicht mit Torf versetzten (jedoch war der Unterschied nur bei Laboratoriumsversuchen bedeutend, bei Feldversuchen dagegen gering). M. Gordienko (Berlin).

McKirley, R., Observations on Nebela collaris Leidy (pro parte), a testate Amoeba of Moorland waters. Part 1. (Journ. R. microsc. Soc. Vol. 56. 1936. p. 307—325, 16 fig.)

Das Moorwasser, arm an Kalk und Sauerstoff, von sehr schwankender Temperatur und von niedrigem p_H, enthält viele Rhizopoden der Gattung Nebela. Sphagnum aus britannischen Mooren enthielt 7 Arten, darunter collaris, und diese Art war Gegenstand genauerer Untersuchung. Die Unterschiede der Arten werden angegeben. Die Anatomie und die Entwicklung (besonders des Chromidiums) sowie die Fortpflanzung und Ernährung werden beschrieben, und eine Methode, dünne Schnitte (2 μ) zu erhalten, wird angegeben. Die Chromidial-Vakuolen enthalten ein Kohlehydrat der Glykogen-Gruppe. Die Schalenplatten sind direkt von den Beutetieren (kleinen, beschalten Rhizopoden, wie z. B. Euglypha) übernommen.

K. Friederichs.

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Ruggles, A. G. und Eide, C. J., Pest control program for fruits in Minnesota. (Un. Minnesota Agric. Ext. Div. Circ. 50. 1935. 4 p.)

Zunächst wird darauf hingewiesen, daß neben der Anwendung von chemischen Mitteln zur Bekämpfung tierischer und pilzlicher Schädlinge die notwendigen Kulturmaßnahmen erforderlich sind. Für Anlagen bis zu 200 Bäumen wird eine Handspritze (Karrenspritze) als ausreichend angesehen, für solche von 700—800 Bäumen an wird die Anschaffung einer kleinen Motorspritze, für größere die einer großen Motorspritze für je 1000—1200 Bäume angeraten. Spritzanweisungen werden für Äpfel, Pflaumen, Wein Himbeeren und Erdbeeren gegeben. Für Äpfelbäume von 15—20 Jahren sind etwa 3 Gallonen (13,62 l) Spritzbrühe je Baum erforderlich.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

McCallan, S., and Wilcoxon, Fr., The action of fungous spores on Bordeaux mixture. (Contrib. Boyce Thomps. Inst. Vol. 8. 1936. p. 151—166.)

In Verfolg der eigentümlichen Wechselbeziehungen zwischen Pilzsporen und der fungiziden Wirkung von Kupferkalkbrühe untersuchten Verff. diesmal das Verhalten der Sporen von Sclerotinia fructicola, Botrytis paeoniae, Alternaria solani, Glomerella cingulata, Neurospora sitophila, Aspergillus niger und Uromyces caryophyllina (Uredosp.). Die Spuren von Cu, die in der Mutterlauge frisch hergestellter Bordeauxlösung sich befinden, verhindern nicht die Keimung von Pilzsporen, erst recht nicht die noch geringeren Mengen, die man mit dest. Wasser aus getrocknetem Kupferkalk ausziehen kann. Die wäßrigen Extrakte der Pilzsporen dagegen brachten teilweise recht beträchtliche Mengen Cu in Lösung, am stärksten wirkten die Uredosporen. 25 Millionen Sporen brachten 0,22 mg Cu in Lösung, Alternaria sol. jedoch nur den zehnten Teil. Je höher die Gesamtexkretion der Sporen war, um so stärker war auch die Herausnahme des Cu aus der Brühe. Diejenigen Sporen, die gegen das Gift am empfindlichsten waren, brachten auch das meiste Cu in Lösung. Im Exkret der Sporen von Neurospora fanden Verff. Äpfelsäure (3,1% vom Gesamtextrakt), ferner 0,75 % Amino-N. Vergleichende Untersuchungen über die Giftwirkungen ergaben, daß Na-Cumalat und Cu-Glycinderivate wie $CuSO_4$ sich verhielten. — Verff. entnehmen ihren Versuchen, daß die Sporen in wäßriger Lösung in erster Linie Oxy- und Aminosäuren exosmieren, diese bilden mit dem Cu der Kupferkalkbrühe Cu-Salze, die ihrerseits die keimtötende Wirkung ausüben.

Skallau (Berlin).

Tropowa, A. T., Die Azidität des Zellsaftes einiger Pflanzen und das Befallen dieser mit Pilzen und Bakterien. [Arbeiten der Abteilung f. angewandte Botanik der Nordkaukasischen Landwirtschaftl. Versuchsstation.] (Ber. üb. d. Versuchswesen im Nordkaukasus, Rostow a. Don. Bulletin No. 13. 19... S. 3—16.) [Russisch.]

Die Azidität des Zellsaftes in den einzelnen Organen einer und derselben Pflanze ist verschieden. Auf Grund von vielen Beobachtungen mit Fusarium ricini Bereng und anderen Krankheiten wird die Vermutung ausgesprochen, daß dies die Ursache dafür ist, daß Pilzerkrankungen bestimmte Pflanzenorgane befallen. Weitere Beobachtungen zeigten, daß der

Befall der Pflanzen (Ricinus communis L., Soja hispida, Gossypium hirsutum L. u. a.) durch verschiedene Bakterien und Pilze auch in Abhängigkeit von dem Entwicklungsstadium der Pflanzen steht, da die Reaktion des Zellsaftes sich mit ihrem Wachstum ändert.

M. Gordienko (Berlin).

Nowogrudskij, D., Die Bekämpfung der Pilzerkrankungen der Kulturpflanzen durch Mikroben. (Ber. d. Akad. d. Wiss. UdSSR. Moskau. Bd. 1. 1936. S. 277—293.) [Russisch.]

Bei Versuchen mit Weizen auf sterilem Boden, in welchen Fusarium graminearum eingebracht wurde, starben die Pflanzen vollständig ab. Die Einbringung von Bakterien in den Boden schützte den Weizen vor der Erkrankung mit Fusarium. Auch beim Lein (auf nicht sterilem Boden) wurde durch Einbringung von Bakterien in den Boden eine bedeutende Verminderung der befallenen Pflanzen erreicht. M. Gordienko (Berlin).

Rose, R. C. und **Moore, M. B.**, Why and how to treat seed of small grains and corn. (Un. Minnesota Agric. Ext. Div. Circ. 53. 1936. 4 p., 2 figs.)

Es werden kurze Anweisungen für die Behandlung des Getreides und des Maises gegeben. Bemerkenswert ist, daß als Beizmittel nicht mehr Kupferkarbonat, sondern quecksilberhaltige Trockenbeizmittel und zwar für Getreide ein Äthylmercuriphosphat „New Improved Ceresan" und für Mais „Merko und New Improved Semesan Jr." empfohlen werden. Für die Selbstherstellung von Geräten werden in Abbildungen Anweisungen gegeben.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Priwalow, M. M., Die Steigerung der Leinerträge durch die überfrühe Aussaat. (Lein und Hanf. Bd. 3. 1935. S. 15—18.) [Russisch.]

Versuche mit überfrüher Leinaussaat (am 18. April) ergaben bedeutend höhere Leinstroh- und Samenerträge als bei gewöhnlicher Aussaat (am 5. Mai). Diese Ertragssteigerung läßt sich vor allem durch bessere Ausnutzung der Bodenfeuchtigkeit und durch viel geringeres Auftreten von Krankheiten und Schädlingen erklären. So äußerte sich z. B. die Verbreitung des Leinerdflohes (Versuche der Versuchsstation Iwanowskaja) folgenderweise: bei der Leinaussaat am 22. März betrug die maximale Ausbeute (Fangprobe) an Leinerdflöhen 12 und der Prozentsatz der durch diese beschädigten Leinpflanzen 0,99%, bei der Aussaat am 2. April entsprechend 16 bzw. 1,40%, bei der am 9. Mai 40 bzw. 1,40%, bei der am 24. Mai 40 bzw. 4,56% und bei der am 7. Juni 72 bzw. 8,36%. Die Rost- und Fusariumverbreitung stellte sich wie folgt (Leinsorte „966", die Untersuchung kurz vor der Ernte): bei der Aussaat am 8. April 11 bzw. 8%, bei der am 20. April 20 bzw. 12%, bei der am 10. Mai 58 bzw. 31% usw. Auch war die Unkrautvermehrung in den überfrühen Leinsaaten viel geringer als in den zur gewöhnlichen Zeit ausgeführten: so betrug die Zahl und das Gewicht der Unkräuter in den ersteren, von 1 ha gerechnet, 3,0 Millionen bzw. 5,85 dz und in den letzteren entsprechend 3,7 Millionen bzw. 10,32 dz. M. Gordienko (Berlin).

Spoon, W., Bewaren van Derriswortel en Derrispoeder. (Ber. Handelsmus. Kolon. Inst. Amsterdam. No. 90. 1935. 12 p., 3 fig.)

Versuche, die sich über 3 Jahre erstreckten, haben gezeigt, daß Derriswurzeln und -staub, die ja neuerdings häufig als der giftige Bestandteil von

Schädlingsmitteln gebraucht werden, mehrere Jahre lang aufbewahrt werden können, ohne an Qualität zu verlieren, vorausgesetzt, daß die Aufbewahrung in gut geschlossenen Gefäßen an einem trockenen, kühlen, dunklen Ort geschieht. K. Friederichs.

Zattler, F., Neuere Untersuchungen über die Nährstoffaufnahme des Hopfens. Ernährungsphysiologie, Wasserhaushalt, Anfälligkeit. (Allg. Brauer- u. Hopfenzeitg. Bd. 76. 1936. S. 669—671.)

Untersuchungen über Nährstoffaufnahme suchen zu klären, innerhalb welcher Zeit bzw. in welchen Entwicklungsabschnitten der Pflanze die Nährstoffe aufgenommen werden. Dabei ergaben sich u. a. interessante Zusammenhänge zwischen der Nährstoffaufnahme und der Anfälligkeit der Hopfenpflanzen.

Bis zur Blütenbildung übersteigt die Aufnahme der Mineralsalze die Menge der gebildeten organischen Substanz, nachher ist es umgekehrt. Andererseits zeigt die Hopfenpflanze in der Regel vor der Blüte gegenüber der Peronospora eine andere Anfälligkeit als nachher. Vorher werden Blätter und Triebe meist stark befallen, nachher in weit geringerem Maße. Von der Blüte an ist die Anfälligkeit stark erhöht, dem Befall sind nun vornehmlich die Blüten bzw. Dolden ausgesetzt. Diese auffällige physiologische Umstimmung, d. h. dieser Umschlag im Stoffwechsel fällt zeitlich mit der Änderung des Verhältnisses von Mineralsalzaufnahme zur Bildung der organischen Substanz zusammen.

Die Ernährung des Hopfens übt, wie eingehende Versuche bewiesen, auf die Widerstandsfähigkeit des Hopfens gegen die Peronospora einen starken Einfluß aus. Jeder Nährstoffmangel, besonders jeder einseitige Nährstoffmangel erhöht die Anfälligkeit gegen Peronospora beträchtlich. Einseitiger Nährstoffüberschuß ist nur dann günstig, wenn es sich um reiche Kali- oder Phosphorsäuredüngung handelt. Stickstoffüberschuß dagegen ist nachteilig und erhöht die Anfälligkeit. Reichliche Kalkdüngung erhöht die Widerstandsfähigkeit der Hopfenpflanze gegenüber Peronospora in keiner Weise, im Gegenteil, die Kaliaufnahme wird durch den Kalk gehemmt, die Anfälligkeit dadurch erhöht. Kali- und überhaupt einseitiger Nährstoffmangel ruft eine zu hohe Transpirationsleistung der Pflanze und damit verringerte Widerstandsfähigkeit gegen Peronospora, wie auch gegen die Rote Spinnmilbe und damit gegen den Kupferbrand hervor. Auch gegen diese Erkrankung erweist sich die alle notwendigen Nährstoffe berücksichtigende Volldüngung als besonders vorteilhaft. Auch dem Licht kommt im Zusammenhang mit der Düngung ein Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit der Hopfenpflanze gegenüber Infektionskrankheiten zu. Heuß (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Pape, H., Die „Glasigkeit" oder „Marmorierung" der Kohlrüben und ihre Bekämpfung. (Deutsche Landw. Presse. 63. Jahrg. 1936. S. 603.)

Äußerlich gesund erscheinende Rüben können beim Durchschneiden im Innern des Rübenkörpers Stellen zeigen, an denen das Gewebe glasig aussieht und meist etwas grau bis schwach bräunlich, in späteren Stadien auch schwärzlich verfärbt ist. Im mikroskopischen Bild weist der Rübenkörper marmorierte Stellen auf. Solche Kohlrüben sind für Speisezwecke unverkäuflich. Einige Sorten sind weniger anfällig als andere. Die gleiche Krankheit, die durch Trockenheit begünstigt zu werden scheint, findet sich auch bei der Wasserrübe (Turnips). Zur Bekämpfung haben sich, wie bei der Herz- und Trockenfäule der Zucker- und Futterrüben, geringe Gaben von Bor bewährt. Empfohlen werden 15 kg Borax je ha, die entweder mit Kunstdünger oder mit Sand vermischt ausgestreut werden. Auch kann

Borax in Wasser aufgelöst und mit einer Hederichspritze über das Feld verteilt werden. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Schreven, D. A. van, Beschouwingen over het Hartrot van de Biet en Resultaten van Potproeven in 1935. [Betrachtungen über die Herzfäule der Rübe und Resultate der Topfkulturversuche in 1935.] (Meded. v. h. Instituut voor Suikerbietenteelt, Bergen-op-Zoom [Holl.]. No. 6. 1936. 211 S.)

Nach den Veröffentlichungen von Brandenburg (1931 und 1932) ist von vielen Seiten die Erforschung der Herzfäule der Zuckerrübe wieder aufgenommen worden. Haben in den meisten Fällen diese Untersuchungen die Richtigkeit der Brandenburgschen Angaben bestätigt, so muß es um so mehr auffallen, daß Forscher wie Krüger, Wimmer und Lüdecke an der alten Theorie festhalten, daß die Herzfäule verursacht werde durch Alkalien, welche während des Wachstums in der Nähe der Wurzeln oder in den Pflanzen durch Umbildung von Salzen entstehen. Verf. hat ausführliche Versuche angestellt, um einen Beitrag zur Klärung dieser Frage zu liefern.

Nach ausführlicher Besprechung der Literatur über Versuche, welche sowohl mit Topf- wie mit Freilandkulturen gemacht worden sind und einer kritischen Besprechung der Arbeiten obengenannter Autoren, werden die Resultate der eigenen Versuche mit Wasser- und Topfkulturen erwähnt. Aus diesen geht hervor, daß Herzfäule in der Tat eine Folge von Bormangel ist. In den Wasserkulturen zeigten die Rüben (Hilleshög Varietät) nach 1½ Monaten das beste Wachstum bei einer Konzentration von 0,7 mg Bor/L, was mit den Angaben von Brandenburg übereinstimmt.

Im Vergleich mit anderen Feldgewächsen vertragen die Rüben merklich höhere Bor-Konzentrationen. Bei 100 mg/L tritt jedoch eine Schädigung der Blätter zutage: der Blattstand wird ein mehr horizontaler, die Ränder kräuseln, das Blattgrün zeigt stärkere Vorwölbungen und wird zum Teil chlorotisch. Auch bei 50 mg/L ist diese Schädigung noch sichtbar.

Aus den Versuchen konnte weiter gefolgert werden, daß Herzfäule in saurer Umgebung auftreten kann bei Mangel an Bor und Ausbleiben bei alkalischer Reaktion des Bodens oder der Düngung, falls nur genügende Mengen Bor zur Verfügung stehen.

Schließlich bespricht Verf. die verschiedenen Faktoren, welche die Aufnahme des Bors beeinflussen können und solche, die die öfters sich widersprechenden Resultate bedingen, wie sie in der Literatur angetroffen werden. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Smirnow, S. A., Die Zuckerrübenfäule. (Zuckerrübenbau. Bd. 9. 1936. S. 43—48.) [Russisch.]

Bei starkem Auftreten der durch den Pilz Rhizoctonia violacea verursachten Rübenfäule wird empfohlen, Gräben um die Krankheitsherde anzulegen und diese mit gebranntem Kalk reichlich zu bestreuen. Nach der Ernte müssen auch die infizierten Flächen mit gebranntem Kalk bestreut und die restlichen Pflanzenteile auf diesen vernichtet werden. Bei nur stellenweisem Auftreten der Krankheit genügt das Ausgraben der erkrankten Pflanze mit der umgebenden Erde. M. Gordienko (Berlin).

Müller, K. O., Die Variabilität der Virulenz und der biologischen Spezialisation bei Phytophthora infestans. (Die Naturwissenschaft. Jahrg. 24. 1936. S. 552—557.)

Die Mitteilung bietet einen Überblick über die bisherigen Ergebnisse der Bemühungen des Verf.s und seiner Mitarbeiter, eine phytophthoraresistente Kulturkartoffel zu züchten. Diese Arbeiten wurden ungemein erschwert durch die sich dabei herausstellende Tatsache, daß auch Phytophthora wie so viele andere pilzliche Pflanzenparasiten in biologische Rassen aufgespalten ist, die gegenüber verschiedenen Varietäten der Wirtspflanze eine verschieden starke Aggressivität aufweisen. Schon einmal glaubte Verf. das Ziel erreicht zu haben, als seine neu gezüchteten, zunächst widerstandsfähigen W-Sorten von einem bis dahin unbekannten hochvirulenten Biotypen der Phytophthora sehr stark geschädigt wurden. Bei der Suche nach weiteren biologisch spezialisierten Rassen wurden auch noch einige gefunden. Darnach ergab sich als dringliche Aufgabe die Beantwortung der Frage, ob diese Biotypen in ihren pathogenen Eigenschaften konstant sind oder nicht. Sie kann heute praktisch bejaht werden, wenn von gewissen Vitalitätsschwächungen abgesehen wird. Niemals hat ein Phytophthora-Typ nach entsprechender Behandlung eine Kartoffelsorte befallen, auf der er vorher nicht gedeihen konnte. Es muß darum vorläufig ein Rätsel bleiben, woher plötzlich solche neuen Formen des Pilzes kommen, die ihre neue Eigenschaft dann mit großer Konstanz beibehalten. Die einzig mögliche Erklärung bleibt die auch vom Verf. gegebene, daß sie schon immer dagewesen sind, und zwar ganz vereinzelt in der großen Masse der auf die bisher angebauten Kulturkartoffeln spezialisierten Form. Die Hoffnung, daß es trotz aller Fehlschläge gelingen möge, widerstandsfähige Kartoffelsorten zu züchten, ist also durchaus berechtigt, wenn es auch nicht ausgeschlossen ist, daß für weitere zuerst resistente Neuzüchtungen ein Phytophthora-Biotyp bereits vorhanden ist, der sich dann zu erkennen gibt. Bortels (Berlin-Dahlem).

Goidanich, G., Comportement parasitaire particulier de la „Phytophthora infestans" De By. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 8. 1936. p. 165—168.)

Ein neuer Biotyp von Phytophthora infestans, der primär die Stengel und nicht die Blätter von Tomaten befällt und diese zum Absterben bringt, wurde in einigen Gegenden Italiens beobachtet. Die Stellung dieses Biotypen zu den bereits von Müller und anderen Autoren beschriebenen harrt noch der Klärung. Bortels (Berlin-Dahlem).

Rjachowskij, N. A., Die agrotechnischen Bekämpfungsmethoden der Tomatenkrankheiten. (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 4. 1936. S. 32—34.) [Russisch.]

Die Kalkung machte Tomaten ziemlich widerstandsfähig gegen Phytophtora infestans. Im feuchten Sommer wirkte das Superphosphat auf die Qualität der Früchte sehr günstig. M. Gordienko (Berlin).

Goss, R. W., Fusarium wilts of potato, their differentiation and the effect of environment upon their occurrence. (Americ. Potato Journ. Vol. 13. 1936. p. 171—180.)

Zwei Kartoffelkrankheiten, hervorgerufen durch die beiden Fusarium-Arten F. oxysporum und F. solani v. eumartii werden be-

schrieben und miteinander verglichen. Auch die Abhängigkeit des Auftretens der einen oder der anderen Art als Erreger von Umweltfaktoren wie Temperatur und Niederschlagsmenge ist eingehend untersucht und mit Zahlen belegt. Bortels (Berlin-Dahlem).

Subramaniam, L. S., Some new seedling diseases of sugarcane. (Indian Journ. of Agric. Sc. Vol. 6, 1. 1936. p. 11—16.)

In Indien wurden Helminthosporium halodes und H. tetramera sowie Pythium graminicolum als Erreger einer Sämlingskrankheit am Zuckerrohr gefunden. Die beiden Helminthosporium-Arten bewirkten eine Wurzelfäulnis der Sämlinge, wobei H. halodes von stärkerer Virulenz als H. tetramera war. Durch Kreuzüberimpfungen ließ sich Pythium graminicolum nicht nur auf Zuckerrohr, sondern auch auf Weizen, Hafer und Gerste übertragen; nur schwach befallen wurden Mais und Durra.

Bärner (Berlin-Dahlem).

Neal, D. C. und Collins, E. R., Concentration of ammonia necessary in low-lime phase of Houston clay soil to kill cotton root-rot fungus, Phymatotrichum omnivorum. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 1030—1032.)

Bei früheren Versuchen war festgestellt worden, daß das Myzel von Phymatotrichum omnivorum in Agar durch Ammoniakwasser 50 : 100 000 in 24 Std. abgetötet wurde. Bei Versuchen mit Boden zeigte sich nunmehr, bei einem Zusatz von Ammoniakwasser in einer Konzentration von 300—700 : 1 000 000 gutes, bei 975 : 1 000 000 spärliches und bei einem Zusatz von Ammoniakwasser von 1025 und mehr zu 1 000 000 kein Wachstum. 26 und 42 Tage nach Versuchsbeginn wurde der Boden auf Ammoniak, Nitratstickstoff und Feuchtigkeit untersucht. Es ergab sich, daß die Umwandlung von Ammoniak in Nitrat sehr schnell vor sich ging.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Friedrichson, G. A., Weizensorten und Brand. (Die soz. Kornwirtschaft. Bd. 5. 1935. S. 77—81.) [Russisch.]

Die Untersuchung verschiedener Weizensorten (Sommerung und Winterung) auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Tilletia tritici und Ustilago tritici ergab, daß diese sehr verschieden ist. So war z. B. Erythrospermum zu 63—96% mit Steinbrand befallen, Lutescens dagegen nur zu 11,6—54,8% usw. Erythrospermum erwies sich sehr widerstandsfähig gegen den Staubbrand. Im allgemeinen zeigten sich alle Wintersorten bedeutend empfindlicher gegen den Staubbrand als Sommerung. Manche Sommersorten (Hartweizen) erwiesen sich gegen den Staubbrand gänzlich immun. M. Gordienko (Berlin).

Hayes, H. K., Ausemus, E. R., Stakman, E. C., Bailey, C. H., Wilson, H. K., Bamberg, R. H., Markley, M. C., Crim, R. F. und Levine, M. N., Thatcher wheat. (Un. Minn. Agric. Exp. Stat. Bull. 325. 1936. 39 p., 9 figs.)

Verff. berichten über die Versuche mit der neuen Weizensorte „Thatcher“, die aus einer Doppelkreuzung (Jumillo × Marquis) × (Kanreal × Marquis) gezüchtet wurde. Diese Sorte zeichnet sich dadurch aus, daß sie gegen Puccinia graminis tritici resistent ist. Die Sorte Thatcher ist gegen Puccinia triticina und gegen Brand anfällig, resi-

stent gegen Bacterium translucens undulosum. Hinsichtlich der Mahl- und Backeigenschaft ähnelt die Sorte Thatcher den Sorten Ceres und Marquis. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Andrianow, W., Die Mehltaubekämpfung bei Stachelbeeren. (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 5. 1936. S. 25—26.) [Russisch.]

Es werden verschiedene Maßnahmen zur Mehltaubekämpfung bei Stachelbeeren (Bespritzen mit 6—7 proz. Eisenvitriollösung usw.) und ihre Wirksamkeit besprochen. M. Gordienko (Berlin).

Baker, K. F. und Heald, F. D., The effect of certain cultural and handling practises on the resistance of apples to Penicillium expansum. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 932—948.)

Bei den Apfelsorten Delicious und Wincsap trat durch Penicillium expansum Blaufäule an Früchten von gedüngten Bäumen in etwas stärkerem Maße als an solchen von nicht gedüngten auf. Stärker war das Auftreten auch an den zur Hauptreifezeit gepflückten Früchten als an den früh gepflückten. Bis zu 180 Tagen hatte die Dauer der Lagerung keinen Einfluß auf das Auftreten der Krankheit. Bei künstlicher Infektion wurden hinsichtlich des Einflusses der Pflückzeit und der Lagerung dieselben Beobachtungen gemacht, dagegen war ein Einfluß der Düngung nicht zu erkennen. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Verrall, A. F., The dissemination of Septoria acicola and the effect of grass fires on it in pine needles. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 1021—1024.)

Die Versuche des Verf.s ergaben, daß die Verbreitung der Sporen von Septoria acicola nur in geringem Maße durch den Wind erfolgt, daß vielmehr die Sporen in der Hauptsache durch die Regentropfen verbreitet werden. Das Ausschleudern der Sporen setzt erst nach mindestens 2 warmen Regentagen ein. Einzelne Schauer genügen nicht. Temperaturen, die das Blattgewebe abtöten, vernichten auch Septoria acicola. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Remsberg, R. und Hungerford, C. W., Black stem of alfalfa in Idaho. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 1015—1020, 1 fig.)

Als Erreger der Stengelschwärze von Luzerne wurde in Idaho ebenfalls Phoma medicaginis ermittelt. Wenn Ph. medicaginis auf Stengeln vom Süßklee gezogen wurde, wurde das Asci-Stadium, das Pleospora rehmiana entsprach, gebildet. Pykniden von Phoma medicaginis wurden in der feuchten Kammer auf Luzerne und Süßklee gebildet, wenn sie mit Pleospora rehmiana infiziert wurden. Typische Symptome der Stengelschwärze zeigten sich auch im Gewächshaus, wenn Luzerne und Süßklee mit Pleospora rehmiana infiziert wurden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Smith, M. A., Infection studies with Sclerotinia fructicola on brushed and nonbrushed peaches. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 1056—1060, 2 figs.)

Bei Infektionsversuchen mit dem Erreger der Braunfäule Sclero-

tinia fructicola wurden bei nicht abgeriebenen Pfirsichen die ersten Infektionen nach 8 Stunden, bei abgeriebenen jedoch schon nach 4½ Stunden festgestellt. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Snell, W. H., The relation of the age of needles of Pinus strobus to infection by Cronartium ribicola. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 1074—1080.)

Auf Grund seiner Beobachtungen an künstlich infizierten getopften Pflanzen von Pinus strobus, die der natürlichen Infektion ausgesetzt wurden und an jungen Freilandpflanzen kommt Verf. zu der Ansicht, daß die Nadeln, die in der laufenden Vegetationszeit gebildet wurden, stärker als die vorjährigen von Cronartium ribicola befallen werden. Andere Ergebnisse führt er darauf zurück, daß die Bäumchen in demselben Jahre, in dem sie getopft wurden, bereits für die Infektionen verwendet wurden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Demaree, J. B. und Cole, J. R., A disporous Gnomonia on pecan. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 1025—1029. 2 figs.)

Den Erreger einer Blattfleckenkrankheit von Carya olivaeformis, über den bereits früher Matz berichtet hat, wird als Gnomonia dispora n. sp. beschrieben. Perithezien werden im Spätsommer auf den abgestorbenen Flecken an lebenden Blättern gebildet. Durchweg wurden in einem Askus 2, gelegentlich 1 und öfters 3 und 4 Sporen gebildet. Das Konidienstadium wurde bis jetzt nicht gefunden. Auf einem Nährboden aus Maismehl und Kartoffelagar wurden Perithezien, Asci und Sporen bei der optimalen Temperatur von 24—26° C in etwa 20 Tagen gebildet.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Uppal, B. N., Kamat, M. N., Patel, M. K., A new variety of Oidiopsis taurica. (Indian Journ. of Agric. Sc. Vol. 6, 1. 1936. p. 110—115.)

An kranken Dolichos lablab-Pflanzen gelang es in Poona eine neue Varietät von Oidiopsis taurica zu isolieren, die sich durch die Größe ihrer Konidien auszeichnet und O. taurica var. macrospora genannt wurde. Der Pilz erzeugt an der Blattoberseite des Wirtes unregelmäßige, rote Flecken und auf den entsprechenden Geweben der Blattunterseite einen mehligen Überzug. Bärner (Berlin-Dahlem).

Blodgett, F. M., and Cowan, E. K., Relative effects of calcium and acidity of the soil on the occurrence of potato scab. (Americ. Potato Journ. Vol. 12. 1935. p. 265—274.)

An Hand von Gefäßversuchen wurde dargelegt, daß Kalk nur durch seinen Einfluß auf die Reaktion des Bodens den Schorfbefall der Kartoffel verstärkt oder vermindert und nicht durch seinen Gehalt an Calcium.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Goss, R. W., The effect of irrigated crop rotations upon potato scab. (Americ. Potato Journ. Vol. 13. 1936. p. 91—96.)

Verf. kommt nach Durchführung vieljähriger Feldversuche zum Schluß, daß Fruchtfolgen mit kurzen Perioden und solche mit Rüben als Vorfrucht vor Kartoffeln wegen des stärkeren Auftretens von Kartoffelschorf nicht ratsam sind. Dagegen sind längere Perioden und solche mit mehrjährigem

Anbau von Luzerne als Vorfrucht wegen höherer Kartoffelernten und geringeren Schorfbefalls sehr zu empfehlen. Bortels (Berlin-Dahlem).

Blodgett, F. M., and Taylor, C. F., Further field experiments on potato scab control in western New York. (Americ. Potato Journ. Vol. 13. 1936. p. 145—150.)

Versuche, den Kartoffelschorf in Böden mit neutraler bis alkalischer Reaktion zu bekämpfen, führten mit Formalin, Sublimat, Tetrachloraethan und Hexamethylentetramin zu keinem durchschlagenden Erfolg. Dagegen erwies sich die Düngung mit Ammonsulfat als ein Mittel, den Schorfbefall zu vermindern, was bereits allgemein bekannt ist. Die Anfälligkeit verschiedener Kartoffelsorten wurde ebenfalls untersucht.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Ark, P. A., und Gardner, M. W., Bacterial leaf spot of Primula. (Phytop. Vol. 26. 1936. p. 1050—1055, 1 fig.)

Verff. beschreiben eine Blattfleckenkrankheit an Primula, die durch braune Flecken mit gelben Rändern charakterisiert ist und besonders an älteren Blättern auftritt. Der Erreger wird als Phytomonas primulae n. sp. bezeichnet. Über das Verhalten des Erregers auf verschiedenen Nährböden wird ausführlich berichtet. Von 27 Spezies und Varietäten von Primula, die infiziert wurden, erwiesen sich 21 als anfällig. Unter natürlichen Bedingungen wurde die Krankheit bisher an 5 Spezies festgestellt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Rosen, A. H., The influence of dry air on the longvity of the fire-blight pathogen. (Phytopathology. Vol. 26. 1936. p. 439—449.)

Die Lebensdauer des Erregers des Feuerbrandes Erwinia amylovora (Bac. amylovorus) hängt vom Grade der Trockenheit ab. So ergaben in trockener Laboratoriumsluft aufbewahrte Bakterienexsudate von Birnbäumen nach 1 Jahr keine lebenden Bakterien mehr, während bei Aufbewahrung ähnlicher Exsudate bei absoluter Trockenheit die Bakterien noch nach 1 Jahr lebensfähig und virulent waren.

Unter Freilandbedingungen aufbewahrte Bakterien waren dagegen schon nach kurzer Zeit abgestorben. In einem dem direkten Sonnenlicht ausgesetzten Exsudat konnten schon nach 3 Wochen keine lebensfähigen Zellen festgestellt werden.

Versuche aus 67 Erdproben, die während der Wintermonate von Dezember bis März 1934/35 von Stellen mit kranken Äpfel- und Birnbäumen entnommen waren, Bac. amylovorus zu isolieren, verliefen negativ. Dieses negative Ergebnis führt Verf. jedoch nicht auf die Abwesenheit dieses Erregers im Boden, sondern auf die Unzulänglichkeit der bakteriologischen Methodik zurück.

Morphologische Untersuchungen von unter extremen Trockenbedingungen gehaltenen Kulturen ergaben keine Sporen, Zysten oder Involutionsformen. Lebende Zellen sind stets größer und färben sich schwerer als tote Bakterien. Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Dastur, R. H., A preliminary note on cotton failure in the Punjab and some abnormalities in the plant. (Ind. Journ. of Agric. Sc. Vol. 6. 1936. p. 377—395.)

Während der letzten Jahre sind in den verschiedensten Gegenden Indiens an Baumwollpflanzen abnorme Wachstumserscheinungen beobachtet worden,

die eine wesentliche Verminderung des Ernteertrags bewirkten. Die Pflanzen zeigten Rötungen an den Blättern, die Kapseln sprangen frühzeitig auf und enthielten unreife Samen mit schlecht ausgebildeten Baumwollfasern. In schweren Fällen ließen die Pflanzen typischen Zwergwuchs erkennen. Histologische Untersuchungen ergaben eine Degeneration des Chloroplasten mit nachfolgender Stärkeansammlung im Blattmesophyll, anormale Ausdehnung dieser Zellen, die zur Schrumpfung oder Kräuselung der Blätter und zur Blattverdickung führte. Schließlich wurde in den epidermalen Zonen Anthocyan und Anthoxanthin gebildet.

Ferner wurden in den Rindenzellen der Wurzel gelbliche Massen beobachtet, die, aus winzigen Körperchen bestehend, lebhafte Brownsche Molekularbewegung zeigten. Ähnliche Körper wurden in den Zellen der Keim- und Laubblätter gefunden. Diese Granula sollen sich später in der Rinde, im Phloem und anderen der Leitung dienenden Zellen, abgesehen von den Gefäßen des Xylem, ansammeln. Bakterienartige Organismen ließen sich aus Stamm, Wurzel, Blatt und Embryo züchten. Verf. nimmt an, daß dieser Organismus innerhalb seines Entwicklungszyklus ein Stadium durchmacht, das zur Vernichtung der Chloroplasten und nachfolgender Verkümmerung der Pflanze führt. Bärner (Berlin-Dahlem).

Luthra, I. Ch., and Sattar, A., Some observations on the mosaic disease of sugarcane in the Punjab. (Ind. Journ. of Agric. Sc. Vol. 5. 1935. p. 649—662.)

Mosaikkrankheit tritt beim indischen Zuckerrohr nur in primären Symptomen (Blattflecken) und gewöhnlich erst bei $1\frac{1}{2}$ jährigen Pflanzen zutage. Verkümmern der Sproßachse und andere sekundäre Merkmale sind nicht beobachtet worden. In 3 jährigen Feldversuchen konnte nachgewiesen werden, daß der durch mosaikkranke Pflanzen hervorgerufene Ernteausfall unbedeutend ist. Bärner (Berlin-Dahlem).

Hartzell, A., Incubation period of peach yellows in its insect vector. (Contrib. Boyce Thomps. Inst. Vol. 8. 1936. p. 113—120.)

In früheren Studien hatte Verf. schon feststellen können, daß die Inkubationszeit in Macropsis trimaculata, die als Überträger der Gelbkrankheit des Pfirsichs (peach yellows) auftreten kann, für die Nymphen 22 Tage und für die ausgewachsenen Tiere 32 Tage nicht überschreitet. Unter Inkubationszeit versteht Verf. die zeitliche Verzögerung in der Erlangung der Infektionsfähigkeit des Virus, die dieses beim Durchgang durch das Insekt erleidet. Leben die Puppen, die auf gesunden Bäumen gezogen worden waren, länger als 4 Tage auf viruskranken Pflanzen, so können sie wiederum infizieren. Das Maximum der Inkubationszeit lag zwischen 10 und 26 Tagen, im Durchschnitt bei 16 Tagen, das Minimum bei 7—8 Tagen. Infektionsversuche gelangen nur in einem einzigen Falle mit dem Insekt, das im Puppenstadium das Virus aufgenommen hatte, sonst aber auf gesunden Bäumen ernährt worden war. Die Inkubationszeit lag hier bei 26 Tagen. Sonst konnte Verf. nirgendwo eine längere Lebensdauer des Virus im Insekt beobachten. Die Ursache des Mißlingens der Übertragung durch das Insekt konnte nicht ermittelt werden. Denkbar wären zwei Möglichkeiten: entweder nimmt das Insekt das Virus überhaupt nicht auf, oder es gibt zwei verschiedene Rassen dieses Virus, von denen eine inaktiv ist.

Skallau (Berlin).

Clinch, P. E. M., Loughnane, J. B., and Murphy, P. A., A study of the aucuba or yellow mosaics of the potato. (Scient. Proceedings Roy. Dublin Soc. Vol. 21 [N. S.]. 1936. p. 431.)

Es wird gezeigt, daß die als „tuber blotch"-, „Monokraat"- und „Aucuba-mosaic"-Virus bezeichneten Kartoffelviren, die alle drei Nekrosen im Knollenfleisch hervorrufen, auch in vielen anderen Eigenschaften übereinstimmen. Sie lassen sich leicht mit dem Saft übertragen, entwickeln an Solanum nodiflorum und Capsicum annuum spezifische Symptome und rufen an Datura, Nicotiana und Petunia latente Infektionen hervor. Bezüglich Filtrierbarkeit, Tötungstemperatur, Verdünnungsgrenze, Dauerhaftigkeit im Saft usf. sind sie einander ähnlich. Übertragungsversuche mit der Blattlausart Myzus persicae waren nur beim tuber blotch-Virus positiv und auch bei diesem nur dann, wenn gleichzeitig das A-Virus übertragen wurde. Augenscheinlich können diese beiden Vira zu Komplexen zusammentreten. Die untersuchten Vira werden als neue Gruppe der „F-Vira" zusammengefaßt und den beiden bisher bekannten Gruppen der X- und Y-Vira gegenübergestellt. Ihre wirtschaftliche Bedeutung wird von den Verff. als beträchtlich angesehen, besonders in Italien scheinen sie stärker verbreitet zu sein. (Nach den Erfahrungen des Ref. sind sie für Deutschland von untergeordneter Bedeutung.)

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Best, R. J., and Samuel, G., The effect of various chemical treatment on the activity of the viruses of tomato spotted wilt and tobacco mosaic. (Ann. Appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 759.)

Suspensionen des Virus der spotted wilt-Krankheit der Tomaten verlieren ihre Aktivität beim Stehenlassen ungewöhnlich rasch. Verff. zeigen, daß das Virus seine Aktivität in gepufferten Lösungen von p_H 7 bei 0° und bei Ausschluß von Sauerstoff 11 Std. unvermindert bewahrt. Durch Zusatz von gewissen reduzierenden Substanzen, vor allem Cystein, wurde die Inaktivierung beim Stehenlassen an der Luft verzögert. KCN in 0,01 m-Lösung schützt das Virus sowohl gegen anaerobe wie aerobe Inaktivierung, $HgCl_2$ in 0,01 m-Lösung hingegen verursacht sofortige Inaktivierung. Reaktivierungsversuehe mit verschiedenen Verfahren waren ohne Erfolg. Die Inaktivierung ist offenbar die Folge einer unmittelbaren Einwirkung auf das Virus selbst.

Zum Vergleich ausgeführte Versuche mit dem sehr beständigen Tabakmosaikvirus ergaben, daß $KMnO_4$ und Chlorazen dessen sehr rasche Inaktivierung bewirken. Gegen eine Reihe anderer Oxydationsmittel war das Virus widerstandsfähig, auch eine mehrere Stunden andauernde Behandlung mit $HgCl_2$ (0,001 m) überstand das Virus ungeschwächt, erst bei längerem Kontakt trat Abschwächung ein. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Köhler, E., Der Virusnachweis an Kartoffeln. Eine Anleitung für Züchter und Kartoffelbegutachter. (Mitt. Biol. Reichsanstalt. Heft 53.) Berlin (Verlag Paul Parey) 1936.

Im vorliegenden Heft werden in knappster Form und nach dem neuesten Stand auf Grund eigener Erfahrungen des Verf.s die Ergebnisse der Kartoffelvirusforschung zusammengefaßt, soweit sie den praktischen Kartoffelzüchter und -begutachter unmittelbar angehen. In einem kurzen einleitenden Text

werden die Einteilung der Kartoffelvirosen, die Krankheitserscheinungen und die Methoden des Virusnachweises (der Krankheitsdiagnose) behandelt. Der anschließende Hauptteil besteht aus 20 Tafeln, auf denen die wichtigsten Krankheitserscheinungen nach Photographien, möglichst naturgetreu und mit Erläuterungen versehen, dargestellt sind. Autorreferat.

Caldwell, J., Factors affecting the formation of local lesions by Tobacco mosaic virus. (Proceed. Roy. Soc. London. Ser. B. Vol. 119. 1936. p. 493.)

Wenn mit der Blatteinreibemethode gefunden wird, daß die Infektiosität eines virushaltigen Saftes durch Zusatz eines Stoffes, etwa eines bekannten Giftes, vermindert ist, so kann diese Verminderung entweder darauf beruhen, daß der betreffende Stoff auf das Virus selbst wirkt, indem er es zerstört oder inaktiviert oder darauf, daß er das Zustandekommen von Infektionen indirekt infolge seiner Einwirkung auf das eingeriebene Gewebe erschwert. Verf. gibt eine sinnreiche Methode an, die die Unterscheidung beider Wirkungen im Infektionsversuch ermöglicht. Sie gründet sich auf die Tatsache, daß — summarisch gesprochen — die Wirkung eines Stoffes, der auf das Virus selbst wirkt, mit abnehmender Viruskonzentration zunimmt, während die Wirkung eines Stoffes, der auf das Gewebe der Pflanze wirkt, mit abnehmender Viruskonzentration abnimmt. Verf. verdeutlicht dies mit Hilfe von kurvenmäßigen Darstellungen. Er findet mit seiner Methode, daß Trypsin, Tierserum und Silbernitrat eine unmittelbare Wirkung auf das Virus selbst ausüben, was bisher umstritten war. Die Einzelheiten der Methodik müssen im Original nachgelesen werden.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Spierenburg, Dina, Een Virusziekte in Lupinen. [Eine Virus-Krankheit der Lupinen.] (T. o. Pl. 1936. Heft 3. S. 71—76 und Heft 9. S. 253—254. Mit 2 Taf.)

Verf.n untersuchte eine ernsthafte Krankheit der süßen und bitteren Lupinen. Die Krankheit äußert sich durch braunschwarze Streifen an den Stengeln; braune abgestorbene Wurzeln, von denen die Rinde bisweilen größtenteils verschwunden ist; eingerollte mosaikartige Blätter, welche verschiedene Eigentümlichkeiten aufweisen, je nachdem man mit gelben, blauen oder weißen Lupinen zu tun hat; umgeknickte Hülsen mit schwarzen Flecken und verfärbten Samen. Die mikroskopischen Wahrnehmungen stimmten überein mit denen, welche Richter (1934) und Köhler (1935) über die Lupinenbräune veröffentlicht hatten. Aus diesen Untersuchungen ging hervor, daß man es mit einer Viruskrankheit zu tun hat, welche identisch sein soll mit einem in Nord-Amerika beobachteten Virus (Johnson und Ainsworth), welches leicht auf Gurken und Tabak übergeimpft werden kann und beim Erhitzen auf 60° C während 10 Minuten unwirksam wird. In Neu-Seeland ist die Krankheit unter dem Namen „Sore-shin“ bekannt.

Die Bekämpfung der Krankheit gestaltet sich insofern sehr schwierig, als das Virus imstande ist, auf eine große Anzahl anderer Pflanzen überzugehen. Nach Verf.n kann man am besten die kranken Pflanzen entfernen. Ob das Virus mit den Samen übertragen werden kann, ist noch nicht bekannt. Angesichts der Tatsache, daß bittere blaue Lupinen ein Krankheitsbild zeigen, welches stark abweicht von demjenigen der gelben Lupinen, ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß man es mit mehr als einem Virus zu tun hat. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Chester, K. St., Liberation of neutralized virus and antibody from antiserum-virus precipitates. (Phytopathology. Vol. 26. 1926. p. 949.)

Verf. setzte das Präzipitat, das man erhält, wenn man zum Mosaik-X-Virus dessen spezifisches Immunserum hinzugibt, der Einwirkung von Pepsin aus und fand, daß dadurch beträchtliche Mengen von Virus frei werden. Desgleichen fand er, daß das Präzipitat auf Ansäuern beträchtliche Mengen des Antikörpers abgibt. Daraus geht hervor, daß die bei Zusatz des Immunserums zum Virus beobachtete Neutralisierung des Virus nicht die Zerstörung von Virus oder Antikörper einbegreift. Aus den Befunden läßt sich voraussichtlich ein brauchbares serologisches Verfahren zur Reingewinnung sowohl des Virus wie des Antikörpers entwickeln. — Titriert man das X-Virus mit seinem spezifischen Immunserum, so ergibt sich, daß eine Antikörpereinheit bis zu 8 Viruseinheiten zu binden und abzusättigen vermag.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Sheffield, F. M. L., The susceptibility of the plant cell to virus disease. (Ann. Appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 498.)

Durch Überbrausen mit Virussuspensionen konnte Verf. nur an solchen Pflanzen Infektionen erzielen, deren Blätter kurz zuvor verletzt worden waren. Die Verletzungen wurden durch leichtes Reiben der Blattoberfläche mit dem Zeigefinger hervorgerufen. Für den Infektionserfolg ist das Zeitintervall maßgebend, das zwischen dem Reiben und dem Überbrausen verstreicht. Schon in den ersten Minuten nimmt die Infektionsneigung außerordentlich rasch ab und nach etwa ½ Std. ist die Zugänglichkeit der abgeriebenen Flächen für das Virus nahezu erloschen. — Die Versuche Verf.s, Mosaikviren mit Hilfe der Mikropipette einzelnen Zellen der Wirtspflanze einzuverleiben und dadurch Infektionen hervorzurufen, hatten nur in etwa 10% der erwarteten Fälle Erfolg. Verf. schließt daraus auf Unterschiede in der Empfänglichkeit der einzelnen Zellen für Virusinfektionen.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Doerr, R. und Seidenglanz, S., Zur quantitativen Auswertung filtrierbarer Virusarten. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 119. 1936. S. 1—9.)

Die Beobachtung, daß bei der üblichen Methode der Titrierung virushaltiger Flüssigkeiten größere Dosen unwirksam, kleinere wirksam sein können, und daß gleiche Dosen bald positive, bald negative Resultate liefern, wird darauf zurückgeführt, daß die Virusarten aus unteilbaren körperlichen Gebilden („Elementen“) bestehen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Phanerogame Parasiten, Unkräuter usw.

Gikalow, S. Ja., Die Bekämpfung des Orobanche ramosa L. [Arbeiten des Instituts f. Hanfbau.] (Lein u. Hanf. Bd. 8. 1936. S. 20—23.) [Russisch.]

Verschiedene Hanfsorten werden vom Hanfwürger (Orobanche ramosa L.) verschieden stark befallen. Es fielen auf je 1 qm folgende Mengen vom Hanfwürger: auf den mit italienischem Hanf bestellten Feldern 0,2 Stück, auf den mit verschiedenen ukrainischen Hanfsorten 0,9—1,2, auf den mit russischem Hanf 23,3 usw.

M. Gordienko (Berlin).

Trunow, G. A., Über die Bekämpfung des Hanfwürgers durch Anwendung der Mineraldüngung. (Materialien zum Studium der Hanfkrankheiten in der Ukraine.) (Lein und Hanf. Bd. 5. 1936. S. 17—18.) [Russisch.]

Gefäßversuche mit verschiedener Kombination der Kunstdünger zeigten, daß sauere Düngung (schwefelsaueres Ammonium, Superphosphat, Sylvinit) die Verbreitung des Hanfwürgers bedeutend herabsetzt, während alkalische (Kalziumcyanamid, Thomasschlacke, KCl) dagegen diese begünstigt. Neutrale Düngerkombinationen standen in dieser Beziehung in der Mitte.

M. Gordienko (Berlin).

Ničiporowitsch, A. A., Zur Physiologie des Sonnenblumenwürgers. [Aus den Arbeiten der Abteilung f. angewandte Botanik der Nordkaukasischen Landwirtschaftl. Versuchsstation.] (Bericht über das Versuchswesen im Nordkaukasus. Nr. 15/16. Rostow a. Don. S. 237—248.) [Russisch.]

Die Stärke des Befalles der Sonnenblume vom Würger hängt von den Keimungsbedingungen für Würgersamen ab, die vor allem durch die Wurzelausscheidungen der Sonnenblume, sodann durch die Bodeneigenschaften bedingt werden. Die p_H-Zahl des Bodens spielt dabei meist nur eine untergeordnete Rolle. $NaNO_3$- und $Ca_3(PO_4)_2$-Gaben erhöhen die Widerstandsfähigkeit der Sonnenblume gegen den Würger, die K_2SO_4-Gaben setzen sie herab (p_H-Änderung des Zellsaftes der Sonnenblume).

M. Gordienko (Berlin).

Gwozdew, N. I., Die Beobachtungen mit Leinfruchtfolge. (Lein und Hanf. Bd. 5. 1936. S. 18—22.) [Russisch.]

Die höchsten Leinerträge wurden nach dem Klee erzielt. Auch war die Verunkrautung der Leinfelder nach dem Klee viel geringer als nach den übrigen Vorfrüchten. Die Untersuchung ergab folgende Mengen von Unkräutern, je 1 ha gerechnet: von Agropyrum repens: nach Roggen 2 633 000 (Gewicht 8,96 dz/ha), nach Hackfrüchten 707 000 (Gewicht 3,71 dz/ha), nach Klee viel darunter usw. M. Gordienko (Berlin).

Sajenko, K. Ch., Die Wirkung der Tiefe des Frühjahrspflügens auf die Verunkrautung der Gemüsefelder. [Arbeiten des Instituts f. Gemüsebau Leningrad.] (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 4. 1936. S. 23—24.) [Russisch.]

Die Keimungsfähigkeit der Unkrautsamen fällt mit der Tiefe ihrer Zubringung in den Boden. Die Samen von Polygonum convolvulus keimen in einer Tiefe von 12 cm nicht mehr auf, die Samen von Sataria viridis sterben in einer Tiefe von 20 cm ab.

M. Gordienko (Berlin).

Ostaschew, I. S., Die Schälfurche auf Podsolboden. (Lein u. Hanf. Bd. 8. 1936. S. 12—15.) [Russisch.]

Als Unkrautbekämpfungsmethode erreicht das Schälen nur dann sein Ziel, wenn es recht frühzeitig vorgenommen wird, d. h. wenn die Zeitspanne zwischen dem Schälen und Herbstpflügen recht lang ist und eine durchschnittliche Tagestemperatur etwa von 10—12° C hat. Beim Schälen am 20. August betrug die Zahl der aufgekeimten Unkräuter, je 1 ha gerechnet, wie folgt: mehrjährige Unkräuter 2 720 000 Stück, einjährige 21 000 000, beim Schälen am 19. September aber entsprechend 520 000 und 160 000 Stück usw.

M. Gordienko (Berlin).

Tierische Schädlinge.

Bovien, P., Some types of association between Nematodes and Insects. (Sonderdr. a. Vidensk. Meddel. Dansk. Naturhistor. Forening. Bd. 101. 1937. 114 S.)

Zwei Arten der Gattung Diplogaster haben ein besonderes Larvenstadium („Dauerlarve") unter den Flügeldecken von Dungkäfern, während zwei andere Arten dieser Gattung endoparasitisch in der Leibeshöhle solcher Käfer (Aphodius) leben. Die Larven von Rhabditis dubia n. sp. winden sich spiralförmig um das Abdomen von Psychodiden, wo sie dann in den Intersegmentalfurchen gefunden werden. Cheilobus quadrilabiatus heftet sich mit einer Sekretmasse als Larve an Käfern fest, wobei der Wurm spiralig aufgerollt ist. Besonders interessant ist die heterogone Fortpflanzung von Heterotylenchus aberrans nov. gen. nov. spec., parasitisch in der Zwiebelfliege. Das befruchtete Weibchen dringt in die Fliegenlarve ein und legt nach dem Heranwachsen derselben zur Fliege Eier, die sich darin zu besonders gestalteten Weibchen entwickeln. Aus den Eiern dieser Weibchen entstehen ohne Befruchtung Larven beiderlei Geschlechts, die durch die Geschlechtswege den Fliegenkörper verlassen. Weitere Untersuchungen betreffen u. a. die Dauerstadien von Neoplectana bibionis und affinis in Bibionidenlarven. Diese Dauerlarven können länger als 1 Jahr in Leitungswasser leben; das Dauerstadium wird aber nur unter günstigen Lebensverhältnissen eingeschoben. Stirbt die Larve ab, so vermehren sie sich stark in dem Kadaver; sie können also nekrophag und parasitisch leben, dementsprechend auch in Eiweiß oder toten Insekten gezüchtet werden. Es wird eine Übersicht über die verschiedenen Arten des Zusammenlebens von Nematoden mit Insekten gegeben. Großes Literaturverzeichnis.

K. Friederichs.

Ark, P. A., and Thomas, H. Earl, Anguillulina pratensis in relation to root injury of apple and other fruit trees. (Phytopathology. Vol. 26. 1936. p. 1128—1134.)

Anguillulina pratensis wurde an den Wurzeln verschiedener Obstbäume, wie Apfel, Birne, Pfirsich und Pflaume, angetroffen. Die von dem Schädling befallenen Saugwurzeln zeigen nekrotische Flecke, in schweren Fällen bleiben sie im Wuchs zurück und erhalten ein struppiges Aussehen. Gleichzeitig wurden 2 verschiedene Bakterien (Pseudomonas fluorescens und eine noch unbekannte Art) in den von Nematoden besetzten Wurzeln gefunden; doch scheint ein beträchtlicher Teil des Schadens dem Nematodenbefall zugeschrieben werden zu müssen.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Christie, J. R., and Croßman, L., Note on the strawberry strains of the bud and leaf nematode, Aphelenchoides fragariae. I. (Proc. Helm. Soc. Washington. Vol. 3. 1936. p. 69—72.)

Künstliche Infektion von Erdbeerpflanzen mit A. fragariae war meist erfolgreich, wenn die Nematoden in einem Tropfen Wasser nahe an die Basis der Blütenblätter gebracht wurden. Fehlen von Krankheitssymptomen sind kein Zeichen dafür, daß der Befall nicht eingetreten ist. Im Freiland zeigten $^2/_3$ der Pflanzen nach einer solchen Infektion unverkennbare Krankheitsanzeichen. Künstliche Aufzucht des Erdbeerälchens gelang, wenn dem Kulturboden ein bestimmter Pilz (am besten eignete sich

bei den Versuchen *Alternaria citri*) als Futterquelle zugesetzt wurde. *A. fragariae* aus Chrysanthemum konnte nach diesem Verfahren nicht gezüchtet werden. Versuche mit dem Heißwasserverfahren bei erkrankten Erdbeerpflanzen ergaben außerordentlich ungleiche Ergebnisse, so daß diese Art der Behandlung nicht empfohlen werden kann. Neben *A. fragariae* kommen in den Blüten der Erdbeerpflanzen noch andere Nematoden vor, die aber schon durch die Gestalt der Eier voneinander leicht unterschieden werden können. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Filipjev, I. N., On the classification of the Tylenchinae. (Proc. Helm. Soc. Washington. Vol. 3. 1936. p. 80—82.)

Verf. bringt hier eine neue Einteilung der Nematodengruppe *Tylenchinae* und stellt die Gattungen *Rotylenchus*, *Pratylenchus*, *Tetylenchus* und *Ditylenchus* als neue Genera auf.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Steiner, G., Opuscula miscellanea nematologica. IV. (Proc. Helm. Soc. Washington. Vol. 3. 1936. p. 74—80.)

In dieser Mitteilung berichtet Verf. über einen neuen in Rhizomen einer Gartenform von *Iris tingitana* festgestellten Nematoden, *Aphelenchoides limberi*, der mit einer Schiffsladung Zwiebelknollen aus Holland nach USA. eingeführt wurde. An *Ixia*-Knollen aus Florida fand sich neben einem Pilz der Gattung *Alternaria* ein unbekannter Nematode, der den Namen *Acrobeles variabilis* erhielt. Der Fadenwurm wurde auch an verschiedenen Narzissen beobachtet. *Acrobeles bodenheimeri* n. sp. wurde an Orangenkeimlingen in Palästina gefunden. Weitere Angaben betreffen den in und an toten Insekten lebenden *Tricephalobus longicaudatus* (Bütschli 1873) und den an beschädigten Irisrhizomen festgestellten *Acrobeles crossotus* (Steiner 1929). Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Marcovitch, S., Experimental evidence on the value of strip farming as a method for the natural control of injurious insects with special reference to plant lice. (Journ. econom. Entomology. Vol. 28 1. 1935 2. p. 62—69.)

Das Prinzip der Mischkultur, in der Forstwirtschaft anerkannt als ein Mittel zur Verhütung vieler Schäden durch Insekten, ist in der Landwirtschaft bisher kaum beachtet worden und wird völlig außer acht gelassen in den ausgedehnten Monokulturen von Mais oder Weizen in Nordamerika, die (wie bei uns in Norddeutschland!) oft 60 ha groß sind. Verf. hat durch Versuche festgestellt, daß Erbsen und Rippenmelonen, in Streifen z. B. zwischen Mais oder Baumwolle gepflanzt, praktisch frei von Blattläusen blieben, während sie, nur 100 m davon für sich allein gepflanzt, von den Läusen vernichtet wurden. Er empfiehlt daher solche Streifenpflanzungen auch für den Großbetrieb als ein Mittel zur Begünstigung der natürlichen Feinde der Läuse, wobei besonders wichtig die Darbietung von Nektar, floralem und extrafloralem ist, wie sie mit der Baumwolle erfolgt. Für Coccinelliden ist der Nektar als Nahrung ebenso wichtig wie die tierische Nahrung. — Andererseits sind gewisse Pflanzen, wie Tabak und Peturien, durch ihre klebrige Oberfläche eine wahre Todesfalle für nützliche Insekten (Braconiden und Trichogramma); daher erlagen Rippenmelonen u. a. in der Nachbarschaft dieser Pflanzen den Blattläusen. K. Friederichs.

Nitsche, G. und Mayer, K., Untersuchungen über Blattwanzen an Getreide. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Bd. 17. 1937. S. 13—16.)

Verff. stellten unter eingesammelten Wanzen Eurygaster maura und Aelia acuminata am häufigsten fest. Die Eiablage der verschiedenen Arten gab Veranlassung, die Wanzen nach bestimmten Merkmalen voneinander zu trennen. Nach der Saugart der beiden genannten Wanzen waren 4 Körnergruppen, glasig oder mehlig, stichfleckig, verkrüppelt und geschrumpft, zu unterscheiden. In der Schadwirkung konnten zwischen den beiden Wanzenarten und den geprüften Weizensorten keine Abweichungen ermittelt werden. Zur Verhütung von Schädigungen werden Reinigung des Getreides von stichigen Körnern, Anbau kleberstarker Weizen und Anbau frühreifer Sorten empfohlen. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Kunike, G., Wanzen an Getreide. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Bd. 17. 1937. S. 1—4.)

Von wirtschaftlicher Bedeutung sind in Deutschland hauptsächlich Eurygaster maura, Aelia acuminata und Carpocoris fuscipinus. Unterscheidungsmerkmale und Biologie werden kurz beschrieben. Obwohl die Witterung des Jahres 1936 besonders während der Milchreife des Getreides den Wanzen günstige Bedingungen bot, war doch ihr Auftreten in fast allen beobachteten Fällen gering. Die äußeren Anstichmerkmale sind für alle 3 Wanzenarten die gleichen. An einem Korn können ein oder mehrere Einstichstellen vorhanden sein, die zu seiner Verkümmerung führen. Die angestochene Zelle, in der sich die Kleberkörner befinden, ist stark gebräunt und ein körniger Inhalt nicht mehr festzustellen. Andere Zellen scheinen nicht geschädigt zu werden. Von Bekämpfungsmöglichkeiten dürfte die chemische oder Wärmebehandlung der Körner oder des Mehles am aussichtsreichsten sein. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Saalas, U., Stephanitis oberti Kol. (Hem. Tingitidae) als Schädling auf Rhododendron. (Annal. Entomologici Fennici. Bd. 2. 1936. S. 34—42, 3 Abb.) [Finnisch m. dtsch. Zusfassg.]

Die im Titel genannte Wanzenart hat in Finnland Rhododendron-Büsche, insbesondere Rh. catawbiense beschädigt. Die Art ist auf Moorpflanzen daselbst ziemlich häufig. Anderweitige Meldungen über solche Schäden, die St. rhododendri zugeschrieben werden, beruhen vielleicht auf Verwechslung mit St. oberti. K. Friederichs.

Lane, M. C., and Iones, E. W., Flooding as a means of reducing Wireworm infestations. (Journ. econom. Entomol. Vol. 29. 1936. p. 842—850, 2 fig.)

Versuche im Labor zeigten, daß Drahtwürmer (Schnellkäferlarven) viel schneller in Wasser mit Erde absterben, als in Wasser allein und schneller bei hoher, als bei niedriger Temperatur. Versuche im Freien, in kleinen, überfluteten Erdkäfigen ließen erkennen, daß ein großer Prozentsatz nach spätestens 1 Woche abgestorben war, wenn die Bodentemperatur zwischen 21—25° C lag. Größere Versuche im Felde erwiesen die theoretische Möglichkeit, die Larven auf solche Weise größtenteils abzutöten: 90—95% innerhalb 1 Woche bei 24° C oder mehr. Praktisch käme es darauf an — neben der Möglichkeit der Überflutung —, ob die Bodentemperatur während einiger

Tage den angegebenen Wert ungefähr behält. — Für erwachsene Schnellkäfer gilt das gleiche. K. Friederichs.

Popow, D., Über die Hanferdflohbekämpfung. (Lein und Hanf. Bd. 4. 1935. S. 16—17.) [Russisch.]

Im trockenen Jahr 1934 war der Hanferdfloh in Rußland besonders stark verbreitet. Als eine wirksame Maßnahme hat sich das Bestreuen mit einem Gemisch aus Kieselfluornatrium und Kalk (5 kg + 15 kg/ha) erwiesen. Das einmalige Bestreuen genügte jedoch nicht, nach der Wiederholung aber, die 10 Tage nach dem ersten Bestreuen erfolgte, wurde eine vollständige Vernichtung des Schädlings erreicht. Auf den bestreuten Parzellen betrug der Samenertrag 7—10 dz/ha, auf den nicht bestreuten dagegen nur 2—3 dz/ha.

M. Gordienko (Berlin).

Hering, Martin, Die Blattminen Mittel- und Nordeuropas. [Bestimmungstabellen aller von Insektenlarven der verschiedenen Ordnungen erzeugten Minen.] Mit 7 Taf. und etwa 500 Textabb. 3. Lief. (Erscheint in 5—6 Lief.) Subskriptionspreis je 12 RM. Neubrandenburg [Verlag Gustav Feller] 1936.

Auf die Bedeutung und Anlage des Heringschen Minenbestimmungswerkes wurde bereits im 94. Band dieser Zeitschrift hingewiesen (S. 350/351). Die neu erschienene 3. Lieferung enthält in alphabetischer Reihenfolge die Wirtspflanzen Forsythia - Myrica (S. 225—336 des Gesamtwerkes). In den drei bisher erschienenen Lieferungen werden insgesamt 1675 Minen und ihre Erzeuger behandelt. Auch die 3. Lieferung ist mit zahlreichen Abbildungen versehen, welche die Bestimmung sehr erleichtern (Abb. 206—296, Tafel IV). Tomaszewski (Berlin-Dahlem).

Emery, W., Chinch Bug flights. (Journ. econom. Entom. Vol. 29. 1936. p. 833—837.)

Große klebrige Fangflächen, deren Beschaffenheit aus der Beschreibung nicht leicht zu erkennen ist, wurden 90 cm hoch über dem Boden, je zwei im rechten Winkel, an geeigneten Stellen aufgerichtet; die anfliegenden Getreidewanzen (Blissus leucopterus) konnten mit Amylacetat abgewaschen werden. Aus den Fangergebnissen in Verbindung mit Temperaturmessungen wurde auf die Bedingungen geschlossen, welche den Flug der Wanzen bestimmen. Wenn im Frühling die Temperatur im Boden 60° F (= etwa 16° C) erreicht, werden die Winterquartiere verlassen. Spätere Flüge erfolgen, nachdem die Temperatur zuerst unter 16° gesunken und dann wieder erheblich gestiegen ist. Entsprechend geschieht im Herbst die Wanderung zur Überwinterung nach Temperaturfall und -aufstieg. Im Frühling beendigen die Wanzen ihren Flug, sobald sie einen geeigneten Futterplatz, etwa den Rand eines Getreidefeldes, erreicht haben.

K. Friederichs.

Tschegolew, W. N. und Mamonow, B. A., Sojaschädlinge im Nordkaukasus. [Aus den Arbeiten der Nordkaukasischen Landwirtschaftl. Versuchsstation.] (Bericht über das Versuchswesen im Nordkaukasus. Nr. 15/16. Rostow a. Don. S. 181—211.) [Russisch.]

Die Untersuchung zeigte, daß Soja im Nordkaukasus von vielen Schädlingen (im ganzen 42 Arten) befallen wird, von welchen folgende eine besondere Verbreitung finden: Etiella zinckenella, Chloridea dipsacea L. und Hylemyia cilicrura Rd. Alle drei Arten

ernähren sich vom Sojakorn, wobei Hylemyia cilicrura Rd. dasselbe im Boden frißt. Nach den Ordnungen verteilen sich die Schädlinge wie folgt: Orthoptera 2, Diptera 1, Coleoptera 15, Lepidoptera 17, Hymenoptera 1, Thycanoptera 1, Aphidodaea 2 usw. M. Gordienko (Berlin).

Ginzburg, R., Die Bodenbedeckung als Bekämpfungsmaßnahme gegen die Kohlfliege. [Aus den Arbeiten der Versuchsstation f. Gemüsebau Leningrad.] (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 4. 1936. S. 38—40.) [Russisch.]

Der höchste Blumenkohlertrag wurde auf den mit Papier bedeckten Parzellen erzielt. Auch war Blumenkohl auf denselben von Kohlfliege am wenigstens befallen (der Prozentsatz der befallenen Pflanzen betrug auf den bedeckten Parzellen 2,3% gegen 7,0% auf den unbedeckten).

M. Gordienko (Berlin).

Stone, M. W., Technique for life-history studies of Wireworms. (Journ. econom. Entom. Vol. 28. 1935. p. 817—824, 2 Fig.)

Methoden für die Zucht von Drahtwürmern im Freiland, zum Zwecke des Studiums ihrer Lebensweise: Käfige, Boden, Fütterung und Behandlung.

K. Friederichs.

Lyle, C., Challenge of the Argentine Ant. (Journ. econom. Entom. Vol. 29. 1936. p. 965—967.)

Aufforderung zur Ausrottung der Argentinischen Ameise (Iridomyrmex humilis) in Nordamerika, die aus ihrer Heimat Brasilien oder Argentinien in große Teile der Welt (auch in Deutschland) eingewandert ist. Ihr Schaden ist sehr mannigfacher und höchst lästiger Art, besonders in Haushalten; er wächst von Jahr zu Jahr. Verf. berichtet, daß in einem amerikanischen Städtchen von 2000 Einwohnern jährlich 3—4000 Dollars für die Vertilgung durch Gift aufgewendet werden. Die Ausrottung ist, wie die Erfahrung gelehrt hat, jetzt noch nicht allzu schwierig, wenn Giftköder sachgemäß und wiederholt angewendet werden und ließe sich durch ergänzende Maßregeln beschleunigen. K. Friederichs.

Kuwitschinskij, B. S., Die Bekämpfung des Apfelwicklers. (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 4. 1936. S. 66—68.) [Russisch.]

Das Bestäuben der Apfelbäume mit Kupfer-Meritol zeigte viel höhere Wirksamkeit als das Bespritzen mit Pariser Grün, Bordeaux-Brühe u. a. Präparaten. M. Gordienko (Berlin).

Muzitschenko, A. I., Die Maßnahmen gegen die Verbreitung des Apfelwicklers bei der Obstaufbewahrung. (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 4. 1936. S. 68—70.) [Russisch.]

Als Maßnahme gegen die Verbreitung des Apfelwicklers bei der Obstaufbewahrung wird eine Fangeinrichtung aus zwei dünnen und unter einem spitzen Winkel zueinander gestellten Brettchen empfohlen, in welcher sich die Raupen ansammeln. M. Gordienko (Berlin).

Popowa, M., Chemische Bekämpfungsmaßnahmen gegen den Himbeerkäfer. (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 5. 1936. S. 20—22.) [Russisch.]

Als gute Bekämpfungsmethode gegen den Himbeerkäfer hat sich das Bespritzen mit Nikotin sowie mit „Anabazin-Sulfat" (15—20 g auf je 1 Eimer Wasser unter Zugabe von 40 g Seife) erwiesen. Nach zweimaligem Bespritzen mit dem letztgenannten Mittel verminderte sich die Verbreitung des Schädlings auf $^1/_4$—$^1/_{10}$. M. Gordienko (Berlin).

Sawzdarg, E. E., Die Bekämpfung des Tarsonemus fragariae auf den Ausläufern der Erdbeerpflanzen. (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 5. 1936. S. 16—20.) [Russisch.]

Die südliche Grenze der Verbreitung des Tarsonemus fragariae Z. liegt etwa an der Juliisotherme + 23° C. Die Versuche zeigten, daß die Bekämpfung dieses Schädlings durch das Beräuchern mit Schwefelkohlenstoff, Anilin, Pyridin, Phosgen u. ä. keine günstigen Resultate ergibt; dagegen erzielte man gute Ergebnisse mit der „thermischen Methode" (Tauchen der Ausläufer vor dem Pflanzen in warmes Wasser).

M. Gordienko (Berlin).

Tsai, Pang-hwa, Recent trend in the study and control of Rice Borers in China. (The Nat. Agric. Res. Bur., Ministry of Industry, Spec. Publ. No. 16. Nanking 1936. 95 p.) [Chines. m. engl. Zusfassg.]

Mehrere Raupenarten, die „Reisbohrer" genannt werden, besonders die (aus tropischen Ländern eingeschleppte) Art Schoenobius bipunctifer, verursachen in China enormen Schaden, z. B. 1929 nach des Verf.s Schätzung zwölfhundert Millionen Dollars. Sie ist monophag an Oryza. Ihre Verbreitung nach Norden ist begrenzt, während Chilo simplex und Sesamia inferens in ganz China vorkommen. Ihr Schaden ist geringer, aber regelmäßig. Stark ist der Schaden nach einem heißen, regnerischen Herbst und einem warmen, trockenen Winter. Außerdem aber wird das Auftreten der Bohrer stark durch Modalitäten der Bestellung, z. B. Saatzeit und Fruchtwechsel, bedingt. Immune Sorten kommen in Frage, aber die Immunität ist beim Reis sehr unstetig in Verbindung mit dem Klima, und jede Gegend braucht daher ihre eigenen immunen Sorten. Es werden Ratschläge für die Statistik gegeben. Für die Bekämpfung empfiehlt sich am meisten das Absammeln der Eier, weil die Arbeitskräfte dort sehr reichlich und billig sind. K. Friederichs.

Subklew, W., Zur Kenntnis der Larven der Melolonthinae. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzensch. Bd. 47. 1937. S. 18—34, 8 Abb.)

Im Pflanzenschutz kommt man nicht selten in die Lage, Engerlinge bestimmen zu müssen, ohne daß bisher von allen dazu hinreichende Beschreibungen vorlagen bzw. leicht zugänglich waren. Es ist daher zu begrüßen, daß hier eine Beschreibung der in Betracht kommenden Formen, begleitet von guten Abbildungen des Analsegments, gegeben wird. Leider fehlen die Aphodien, die im landwirtschaftlichen Pflanzenschutz ebenfalls zuweilen in Frage kommen, sei es auch nur als vermeintliche Schädlinge. K. Friederichs.

Zulauf-Wildi (—), Ein sicherer Schutz der neugepflanzten Reben gegen Engerlinge. (Schweiz. Ztg. Obst- u. Weinbau. 1934. S. 145. Ref. in: Rev. appl. Entomol. Vol. 23. 1935.)

Bei Neupflanzung junger Reben in der Schweiz werden diese gegen Engerlinge geschützt, indem man die Wurzeln in einen Lehmbrei und sodann in feinen Glasstaub eintaucht. Das Pflanzen muß dann erfolgen, bevor der Brei erstarrt. Man kann auch junge Obstbäume auf diese Weise schützen.

K. Friederichs.

Flemeon, F., and Hartzell, A., Effect of low temperature in shortening the hibernation period of insects in the egg stage. (Contrib. Boyce Thompson Instit. Vol. 8 2. 1936. p. 167—173.)

Eigelege des Falters Malacosoma americanum, im Herbst gesammelt, schlüpften im Winter bei Zimmertemperatur aus, wenn sie vorher 8—12 Wochen in 1, 5 oder 10° C gehalten waren, während sie, dauernd im Zimmer gehalten, nicht schlüpften. Je länger man Kälte einwirken ließ, um so schneller erfolgte das Schlüpfen. Bei Alsophila pometaria schlüpft ein Teil der Eier im Zimmer auch ohne vorher der Kälte ausgesetzt gewesen zu sein. Die Fangschrecke Paratenodera sinensis dagegen schlüpft in Zimmertemperatur gleich schnell mit oder ohne vorhergehende Behandlung mit Kälte. K. Friederichs.

Subklew, W., Beziehungen zwischen der Lebensfähigkeit der Larven von Melolontha melolontha L. und Melolontha hippocastani F. und dem Salzgehalt des Außenmediums. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jahrg. 1936. S. 145—162.)

Engerlinge erwiesen sich hinsichtlich ihres Verhaltens zum Salzgehalt des Mediums als weitgehend poikilosmotisch. Sie sind noch widerstandsfähiger als Elateridenlarven gegen starke Düngung des Bodens mit Kalisalzen. Bei beiden müßte zur Bekämpfung Kalisalz in solcher Menge gegeben werden, daß der Pflanzenwuchs dadurch vernichtet würde.

K. Friederichs.

Gischickij, Ja., Über Loxostege vepticalis L. (Zuckerrübenbau. Bd. 6. 1936. S. 45—48.) [Russisch.]

Die Raupen Loxostege vepticalis L. sind bezüglich der Pflanzenart wenig wählerisch. Die Ausbeute (Durchschnitt von 100 Fangproben) betrug auf verschiedenen Pflanzen wie folgt: auf Kartoffel 3, auf Zuckerrüben 8, auf Mais 29, auf Luzerne 31, auf Hirse 43, auf Malve 9, auf Melde 57 usw. M. Gordienko (Berlin).

Munro, I., Grashoppers and agricultural development in North-Dakota. (Journ. econom. Entom. Vol. 29. 1936. p. 813—820.)

Bericht über das Auftreten von Heuschrecken in Nord-Dakota früher und in diesem Jahrhundert, die getroffenen Maßregeln (vergiftete Köder) und deren Erfolg. Es handelt sich um mehrere Arten: 3 der Gattung Melanoplus, dazu Camnula pellucida und Dissosteira carolina. Die bereits zum Dogma gewordene (und in Europa zutreffende) Meinung, daß die fortschreitende Landeskultur die Heuschreckenplage beseitige, bestätigt sich in Dakota nicht. Der Umfang des bebauten Landes hat sich seit 1880 verzehnfacht, das Massenauftreten der Heuschrecken aber war 1934 ebenso stark wie im vorigen Jahrhundert, und mindestens eine Art, M. mexicanus, brütet so leicht auf kultiviertem Gelände wie auf

ursprünglichem Grasland. Andere Arten ziehen Wegseiten und Weiden, die neben den Feldern liegen, vor, und konzentrieren sich auf diese. Solche Verhältnisse scheinen für sie günstiger zu sein als ganz ursprüngliche.

K. Friederichs.

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Böttcher, F. K., Untersuchungen über den Einfluß einiger chemischer Hederichbekämpfungsmittel auf die Bienen. (Diss. Erlangen. 1935. 72 S., 3 Abb.)

Untersuchungen über die Wirkung der kupferhaltigen Präparate Raphanit (25,5% Cu), Obranit (29,8% Cu), Eisenvitriol (20,08% Cu) und Hedrinol (4,8% Cu) ergaben, daß die Dosis letalis minima bei den ersten drei Mitteln durchschnittlich etwa 3 mmg metallischen Kupfers je Biene beträgt, während Hedrinol so stark abschreckend wirkt, daß jene Dosis nicht genau bestimmt werden konnte. Sie wechselt mit dem Alter und Ernährungszustand der Biene. Freilandversuche großen Maßstabes zeigten, daß die genannten Mittel bei sachgemäßer Anwendung keine ernstliche Gefahr für die Bienen bedeuten. Schäden traten auf bei Anwendung von Raphanitstaub auf trockenen Versuchspflanzen und bei 30 proz. Eisenvitriollösung. Für den chemischen Giftnachweis diente eine kolorimetrische Mikromethode, da die Biene auch unvergiftet einen natürlichen Kupfergehalt hat, der für die verschiedenen Stadien und Geschlechter angegeben wird. Auch Pollen enthält Kupfer. Entsprechendes gilt für den Nachweis des Eisens bei Vergiftungen. K. Friederichs.

Borchert, A., Der Stand der Bienenseuchen-Forschung und Bekämpfung mit dem Ziele einer zwischenstaatlichen Regelung. (Berl. tierärztl. Wschr. 1936. 837—840.)

Allgemeine Bemerkungen über dieses Thema in Verbindung mit Darlegung der Tilgungsmaßnahmen bei der Bösartigen Faulbrut und der Milbenseuche. Diese Bestrebungen würden ganz wesentlich unterstützt durch Einführung der Anzeigepflicht sowie namentlich durch die Einrichtung eines alle bienenzuchttreibenden Länder umfassenden Bekämpfungsdienstes mit dem Ziele eines gemeinsamen Vorgehens auf diesem Gebiete. Dazu gehören noch nach wissenschaftlich einwandfreien Methoden arbeitende Untersuchungsstellen. Carl (Karlsruhe).

Verschiedenes.

Lockemann, G. und Ulrich, W., Ein Vorschlag zur Schutzmaßnahme gegen bakterielle Ansteckung durch den Mund. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 284—289.)

Nach Verschlucken von lebenden Krankheitserregern (aus der Typhus-Ruhr-Gruppe, von Cholera- und Abortus-Bang-Bakterien) hat sich folgende Schutzmaßnahme mehrfach bestens bewährt: Einnehmen von Natriumrhodanid (2 proz., 1 Teelöffel voll, mehrmals wiederholen) und anschließend von Liebigs Fleischextrakt (etwa messerspitzenweise, im Munde zergehen lassen und mit einigen ccm Wasser hinunterspülen).

Rhodan steigert die keimtötende Wirkung der Magensalzsäure. Es ist in brauner Flasche in neutralem Zustand unbegrenzt haltbar. Die Konzen-

tration ist durch Titration mit Silbernitrat nach Volhard zu bestimmen, da das käufliche Natriumrhodanid immer gewisse, teils sogar erhebliche Mengen Wasser enthält.

Der Fleischextrakt regt bei gesundem Magen die Absonderung von Salzsäure an. Das Einnehmen von größeren Mengen 0,2 proz. Salzsäure hat eher eine schädliche als nützliche Wirkung.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Ignatius, A., Über antibakterielle Hemmungsstoffe (Inhibine) im schleimigen Nasensekret. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 118. 1936. S. 445—454.)

Es gelang, im normalen schleimigen Nasensekret antibakterielle Hemmungsstoffe gegenüber Corynebact. diphtheriae, Bac. subtilis, Bac. anthracis nachzuweisen; im wässerigen Sekret während akuten Schnupfens waren sie nicht feststellbar. Die Inhibine wirkten sowohl gegen das unbeschränkte Wachstum der Nasensekret-Eigenkeime als auch gegen das Wachstum künstlich von außen zugefügter Keime.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Weiland, P., Bakterizide Wirkung von Mesentericusfiltraten auf Diphtheriebazillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 451—456.)

Bac. mesentericus diffundiert im Verlauf seines Wachstums Stoffe in die Nährflüssigkeit, die eine spezifische und bakterizide Wirkung auf das Diphtheriebakterium ausüben. Diese Stoffe, deren Natur noch unbekannt ist, waren filtrierbar, bedingt hitzebeständig und entfalteten bis zu einer Verdünnung 1 : 10 ihre volle Wirksamkeit in vitro.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Arsenijević, Der Gallertwert verschiedener Handelsagarsorten. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 493—497.)

An Proben von Handelsagar verschiedener Bezugsquellen konnten mittels der Methode zur Titrierung der Gallertfestigkeit nach Dimitrijević-Speth (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 149) beträchtliche Unterschiede des Gallertwertes festgestellt werden.

Die Kochbeständigkeit der geprüften Agarsorten war im allgemeinen ziemlich gleichmäßig. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Link, Th., Über die Ansiedlung von Colibakterien im Darm von Mäusen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 63—65.)

Es wurde geprüft, ob es irgendwelche äußeren Bedingungen gibt, die die Ansiedlung nichtpathogener Keime im Darm erleichtern können. Nach den mit Mäusen durchgeführten Versuchen ergibt sich, daß der Aufenthalt der Tiere bei niederer Temperatur die Coli-Ansiedlung hemmt, während erhöhte Temperatur die Dauer der Ansiedlung verlängert. Eine dauernde Ansiedlung gelang aber in keinem Falle.

Bakteriophagen, die von den Colibakterien im Darm gebildet wurden, waren parenteral nicht nachweisbar.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Abgeschlossen am 10. April 1937.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 96. No. 13/19.
Ausgegeben am 15. Juni 1937.

New Principles for the Classification of Bacteria.

[Laboratory of Bacteriology, Cornell University, Ithaca, N. Y.]

By **Otto Rahn.**

With 1 figure in the text.

I. Concerning "Laws" in Taxonomy.

To the bacteriologist, the difference between a coccus and a spirillum appears to be very great. When Löhnis, Haag or Cunningham claim to have changed a spore-forming rod to a micrococcus or vice versa, we are likely to regard this as comparable to the change from a cat to a mouse, or from a pine to a pansy. But we are thinking in the wrong scale; we should limit such comparisons to single cells. The differences between the epithelial cell and the nerve cell, or between the chlorophyl cell and the cells of the petals are greater than between any two bacteria. Nobody has as yet succeeded to change the tissue culture of chick epithelium to chick connective tissue, and yet, both these tissues came from the same ovum cell, and in the living tissue, some of the cells will ultimately "revert back" to ovum cells and complete the cycle. Eventually, we might learn to do this by addition of the proper hormones to tissue cultures.

The wrong scale of thinking is also applied when we transfer the rules of taxonomy of multicellular plants and animals to the unicellular bacteria. The tools do not fit the need.

In the enormously varied "dissociation" from the ovum cell of a mammal into cells with and without membranes, into non-motile and motile (leucocyte) cells, into glycogen-storing and fat-storing cells, etc., one part of the cell remains alike through all changes, namely the chromosome material, the hereditary mechanism. This is the foundation of the species. Some similar hereditary mechanism must also exist in bacteria, since with them, also, the offspring resembles the parent as a general rule.

In Drosophila, more than 50 genes have been changed, and some of the mutants look very different from the original species. Nevertheless, any entomologist would at the first glance recognize the variant as a close relative of drosophila. In plants, there has never been a doubt that the polyploids belong to the same genus as the diploids.

The number of hereditary units in bacteria is probably much smaller; the author (1936) has estimated the order of magnitude to be 100. More important is the extreme monotony of form in bacteria. We have only the following possibilities:

spheres | rods
division in 1, 2 or 3 dimensions | curvature in 2 or 1 or 0 dimensions
flagellation
sporulation
size

It seems quite probable to the writer that by the mutation of a single hereditary unit, a coccus might be changed to a bacterium, or a bacterium to a vibrio. Enderlein (1925) even assumes that haploid cocci will easily produce diploid short rods or polyploid long rods. (The terms haploid, diploid and polyploid are not quite correct since Enderlein assumes the nuclei to remain separate as in rusts, smuts and many hyphomycetes.)

Compared with the severe simplicity of form, the physiological or metabolical possibilities of variation are almost innumerable. An outstanding property of large groups of bacteria is the ability to provide for their energy needs without the utilisation of molecular oxygen. But even the lactic fermentation which must be considered as one of the simplest reactions, involves a complex mechanism. Lactic acid is known to be the endproduct of a series of chemical reactions requiring an esterase for the manufacture of hexose-phosphate, another enzyme to break this into glyceric aldehyde, and a dehydrogenase or dismutase for the final change into lactic acid. At least three enzymes are necessary, and it is hardly imaginable that the acquisition of one single "gene" will suffice to provide this complete mechanism. For this reason, the shift from an aerobic organism to an anaerobic seems to the writer more difficult than from a sphere to a rod, i. e. it involves a change of more genes.

The trend of evolution depends not so much upon the number of genes, but upon the ease with which they can be changed. Since we know nothing about the chemistry of genes, we can make no prediction, and consequently should not apply laws from entirely different groups, but observe the facts. After all, a system is the expression of experience. We must first consider the evidence before we can make laws.

Evidences for a shift from Micrococcus to rod-shaped bacteria do not exist, at least we know of no gram-positive bacterium whose metabolic activities are parallel to those of a typical Micrococcus. A perfect parallelism exists, however, between Streptococcus and Lactobacillus where in some species, the only real difference is in the cell form. Another good evidence is the close parallelism between the two large groups of polar flagellates, Vibrio and Pseudomonas. Morphologically they differ only in the curvature; physiologically; they behave very much alike as may be seen from the statistical tables on the last page of this paper.

In the above-mentioned examples, physiology remained essentially unchanged while morphology was altered. In several other groups we observe a very uniform morphology with a gradual shift of physiological characters. Morphological changes are usually decided changes, from straight to curved rod, from sphere to rod. Physiological changes may be quantitative, and thus more gradual. This is one of the main difficulties in bacterial taxonomy. A bacterium may produce a very small amount of acid, so little that it cannot be detected if at the same time, ammonia is produced from

protein. Hucker (1924) found that some of the Micrococci did not produce visible liquefaction of gelatin until the 80th or 90th day.

Nevertheless, a bacterium capable of changing glucose to lactic acid must at some time have acquired the ability to do this. As shown above, the formation of an acid-former from a non-acid former is hardly possible in one single mutation. However, after once such complete mechanism has been established, further development seems easier because most of the common fermentations start in the same way: hexose phosphate to glyceric aldehyde. Thus, the addition of one more enzyme affecting glyceric aldehyde or pyruvic acid might change the products of fermentation, or increase the number of products formed.

Table 1 suggests the evolutional development of the colon-typhoid group. The graph is a modernisation of an original scheme by Rogers, Clark and Lubbs (1918). This scheme indicates Aerobacter as the most complex, i. e. most highly organized type. Bacteria might acquire or lose properties, genes, enzymes. Thus is created a multiplicity of types which would result in an endless continuity of only very slightly differentiated strains if not the ancestral and intermediate forms had gradually become extinct.

Table 1.

Evolution of the Colon-Typhoid Group (Numbers indicate the number of species from Bergey's Manual).

		Oxidase (no fermentation)	Oxidase + acid fermentation	Oxidase + acid fermentation + equal $CO_2 + H_2$	Oxidase + acid fermentation + equal $CO_2 + H_2$ + further CO_2	Oxidase with some of of the other properties feeble or missing
non-liquefying	non-motile	1 Klebsiella 2 Alcaligenes 3 Serratia	1 Eberthella 12 Shigella	5 Klebsiella 7 Escherichia 3 Salmonella	3 Aerobacter	1 Proteus 2 Serratia
	motile	2 Serratia 2 Alcaligenes	6 Eberthella 2 Serratia	10 Escherichia 16 Salmonella 1 Serratia	1 Aerobacter	1 Proteus 1 Erwinia
liquefying	motile	2 Alcaligenes 1 Serratia	3 Eberthella 2 Serratia	5 Escherichia	1 Aerobacter 9 Erwinia	2 Proteus 1 Erwinia 5 Serratia
	non-motile	2 Alcaligenes 2 Serratia	1 Shigella 1 Serratia	—	—	—

The author has pointed out repeatedly (1920, 1929) that as a matter of fact, the ancestral and intermediate forms in many cases did not die out, or they are continually being created anew. Under these conditions, a "natural" classification is not possible. In order to classify, we must have discontinuity.

If we wish to group the numbers from 1 to 100 into logical classes, we can do this by drawing a line between 49 and 50. Since the groups need not be equal, we can as well draw the line between 78 and 79, or between 9 and 10. Much better would be a grouping into odd and even numbers; such a system would have the advantage of being applicable even if new numbers larger than 100 were added later. No continuity

exists, and there would never be the slightest doubt about classification of any number. The entire system collapses, however, if, in addition to the integers, we have to consider intermediate values such as 3.71 and 15.9. This establishes continuity, and all that can be done in respect to classification is the drawing of arbitrary lines.

This accounts for the failures of a "natural" subdivision in the colon-typhoid group. The genera of Castellani and Chalmer's are quite arbitrarily defined, some on such a flimsy basis as hydrolysis of lactose. This property is rather easily gained or lost, the classical example being the spontaneous change of "Salmonella" coli mutabile to "Escherichia" coli mutabile. (See also Lommel, 1926, and Rennebaum, 1935, for the opposite change.)

But the urge for new genera continues. Many bacteriologists consider Bacterium coli and aerogenes too closely related to be divided into two genera, Escherichia and Aerobacter. But Werkman and Gillen (1932) found so many intermediate forms between Escherichia and Aerobacter that they created for these intermediates a new genus Citrobacter. Later, Tittsler and Sandholzer (1935) found quite a number of intermediates between the intermediate Citrobacter and Escherichia. Fortunately, they did not give this group a new genus name. The separation by Bergey of the capsule-forming species of this group into a separate tribe Klebsielleae and of the plant-pathogenic species (among them 3 capsulated species) into another tribe Erwineae is one of the most discouraging features of recent taxonomy.

II. Natural Groups and The Natural System.

The minimum requirement for a "natural system" is that closely related species are not placed in different genera. The conception of close relation is to some extent a matter of viewpoint. The separation of the plant-pathogenic gasformers from all other gasforming species in a different genus and a different tribe seems "natural" to Bergey, but very "unnatural" to the writer. In a general way, however, most bacteriologists will agree on most natural groups.

These groups are by no means equally clear. It is very remarkable that only the groups of Gram-positive species have sharp border lines, with hardly any intermediate forms. The Gram-negative groups do not show such clear definitions. While the center of the group is in perfect morphological and physiological agreement, there are variants with quantitative differences, and these are gradually fading into complete absence of a character, but with all intermediate steps existing, so that the limitation of the genus is possible only by an arbitrary line.

The value of the Gram-stain has been recognized by almost all recent taxonomists. Prévot (1933) incorporated it in his third taxonomic law. Henrici (1935, p. 108) mentions that the lower algae and fungi as well as most of the actinomycetes are Gram-positive while the chlamydobacteriales, thiobacteriales, myxobacteriales and spirochaetales as well as all protozoa as far as tested are Gram-negative. Under these circumstances, the utilization of the Gram stain for the definition of families and genera does not appear unreasonable. Gram reaction is closely correlated to many other properties, e. g. Gram-positive bacteria resist digestion by pepsin or trypsin, are not dissolved by 1% KOH like the Gram-negative bacteria, not killed by toluene, are sensitive to electrolytes, but resistant to nonelectrolytes, and not easily autolyzed[1]). The author has recently (1936a) verified that most Gram-negative bacteria do not need potassium while all Gram-positive species do. Still, it must be admitted that the division between

[1]) For literature and more detail, see Churchman in Jordan and Falk, 1928, p. 25.

Gram-positive and Gram-negative species is not absolute, but includes quantitative shades. They may be due to superposition of other factors since the primary cause is probably the lipoid content of the cell.

Some confusion has been caused by various "improvements" in Gram's original method which gave different results. Hucker (1924) stained 316 micrococci by 5 different methods, all called Gram stain, and obtained quite different results, varying from 12% to 98% of Gram-positive cultures. It is strange that the Winslows (1908) were the first to find a fairly large number of coccus forms Gram-negative while heretofore, they had been described as practically all gram-positive. Bergey described them as dominantly positive (see statistical Table, last page 285), but Buchanan distinguishes between gram-positive Staphylococcus and Gram-negative Micrococcus. Is it imagineable that this change is brought about by a change in the composition of the dyes since 1908, or in the purity of the other ingredients?

Nobody has doubted during the last 30 years that all spore-forming bacteria are closely related. Lehmann and Neumann hesitate to even separate the anaerobic species in a separate genus.

One very conspicuous physiological group are the strictly prototrophic bacteria. Most of the prototrophic species belong to the Thiobacteriales, and they show such a wealth of morphological changes (as compared with the Eubacteriales) that it seems wisest to maintain the separate order of Thiobacteriales. The much more varied morphology suggests that the Thiobacteria branched from the Eubacteriales (or vice versa) a very long time ago, and have developed along somewhat different lines as is shown by the appearence of photosynthesis in some groups, and by the larger size and a protozoon-like form.

Aside from the hydrogen sulfide bacteria, the strictly prototrophic bacteria are limited to the nitrate group (Nitrosomonas, Nitrobacter, Nitrosococcus) and one species each of Methanomonas and Carboxydomonas, and 3 of Thiobacillus. The latter can be easily added to the Thiobacteriales some of which are also capable of utilizing sulfur, at least that within their own cells. The other 10 species are quite isolated, without any close relatives.

The facultative prototrophs like Hydrogenomonas which grow well on standard media cannot be included here for they would be never recognized as such; they have no other properties which distinguish them from saprophytic bacteria.

The second outstanding physiological property of taxonomic value is the behavior to oxygen. We distinguish generally four groups:

1) strict aerobes: thriving only in the presence of oxygen (the limited growth of some species anaerobically in the presence of unusual hydrogen acceptors is not considered thriving).
2) facultative aerobes[1]): utilising oxygen when present, and thriving in the absence of oxygen by means of another energy supply.
3) strict anaerobes: oxygen is poisonous; they thrive only in its absence; their energy supply requires no moleculai oxygen.
4) facultative anaerobes[1]): oxygen is not very poisonous, but they derive no benefit from it, and use the same energy me-

[1]) The definitions of facultative aerobes and facultative anaerobes are reversed by some bacteriologists; the terminology is a matter of viewpoint, and not really debatable.

chanism with or without oxygen; usually, they thrive better without oxygen.

Every bacteriologist recognizes the last three as representing natural groups: 2) represents the colon-typhoid group, 3) is Clostridium and 4) is Streptococcus, Lactobacillus and Propionibacterium. Practically all other species of the Eubacteriales belong to group 1).

Other physiological groups are mostly sub-groups of these. Lactic acid as the main product is typical for only two groups, Streptococcus and Lactobacillus. Butyric acid is produced almost exclusively by Clostridium, but not by all of its species. Acetic plus lactic or succinic acid and CO_2 and H_2 characterize the colon group, and it seems that the typhoid group varies essentially from the colon group only by producing HCO_2H in place of $H_2 + CO_2$. Interesting and important taxonomically is also the inability of Alcaligenes to attack any carbohydrate. According to Cook and Stephenson, the oxidase for carbohydrates is missing.

The agreement between morphology and physiology in some cases is only partial. Since not all clostridia produce butyric acid, it is probable that the group of anaerobic sporeformers developed before the butyric acid enzyme was developed. It seems less probable that all clostridia originally had this enzyme and some later lost it. — The agreement between lactic acid fermentation, streptococci and lactobacilli is so perfect that one of these groups must have developed from the other. Considering their agreement in all other properties as well (see table on p. 285), it seems extremely improbable that they come from entirely different ancestors and then developed to such great similarity without showing, at the same time, branches in different directions as well. — The possibilities of the evolution of the colon group has already been discussed above.

It is noteworthy that only the carbohydrate metabolism brings out taxonomic relationships and correlation with morphology while protein decomposition is of little value. The only agreement is the absence of gelatin liquefaction in certain genera while indol as a group definition has failed completely. It may be that the proteolytic endo-enzymes existing in each cell are fairly similar, and perhaps, a bacterium becomes a liquefier merely by a greater permeability of the cell membrane permitting the enzyme to diffuse out.

III. Outline of a Natural System.

The following outline is not claimed to be a perfect system, but a first attempt of getting nearer to a "natural" system by breaking with Prévot's first taxonomic law that morphology overrules physiology. The object was primarily a new viewpoint of relationships. No new genera have been created (only one new genus name has been proposed for the colon-typhoid group), but the old genera are grouped in new families. The family names may seem too clumsy for permanent use, and may be improved upon later. Many genera which the author considers confusing rather than helpful have been cancelled.

The best test for a system is the placement of all known species into the new genera and families. If all can be placed, the new system is at least

complete, which cannot be claimed for all of the proposed systems nor for that which is proposed here. In the following outline, after each genus name is mentioned the number of species from Bergey's Manual which fit the genus description.

The spore-forming bacteria are considered to be absolutely different from the rest of the Eubacteriales which alone are considered here. Since sporulation has been claimed for spirilla and cocci as well as for rods, the sub-order is called Endosporales. The order has 3 genera, Bacillus, Clostridium and Aerobacillus, the latter including all really facultative sporeformers. The emphasis which Kluyver and van Niel place on 2—3 butylene glycol over all other products from carbohydrates, here as well as in the colon group, does not seem justified.

All non-sporulating Eubacteriales represent the sub-order Asporales. They are subdivided primarily by the Gram stain. The first two families are the gram-positive bacteria, Gramoxidaceae which need and utilize oxygen, and Gramanoxidaceae which do not. The first consists of the genus Kurthia with 2 species, and the large genus Micrococcus which includes all gram-positive, aerobic, spherical bacteria. Most of the sarcinae are also included, namely those which have parallel forms in the old genus Micrococcus and which, according to Lehmann and Neumann, should be named forma sarcinica of the respective Micrococcus (see also Rahn, 1920).

Quite different are the anaerobic sarcinae. They are placed by Kluyver and van Niel in 3 genera, Zymosarcina Smit, Butyrisarcina nov. gen. and Methanosarcina nov. gen. No parallel micrococci are known. Their metabolism is widely different from the common micrococcus-sarcina type. As anaerobes, they must be placed into the Gramanoxidaceae. The aerobic Sporosarcina ureae is according to Henrici (1934, p. 323) a Bacillus which becomes spherical when old, and is here considered to belong to Bacillus.

The definition excludes the two Gram-negative groups Neisseria and Veillonella. The former has no close relation, if any, to Micrococcus; the latter genus probably not either, being strictly anaerobic. Following the example of Prévot who studied them closely, they are placed here in the same family, but only tentatively since the author is not quite convinced of their relatinship (see Benians, 1912, about the Gram stain of Neisseria).

Besides these two groups, there are other gram-negative cocci which in all other respects fit into the genus Micrococcus and should not be separated. Whether they represent definite species or are merely sports, comparable to albinos or avirulent pathogens, or possibly temporary dissociants of other species (see Haag, 1927, foot note on p. 302), we cannot say. Even their relative frequency is uncertain because of the various staining methods employed.

The second family, Gramanoxidaceae, needs further comment. The first 3 genera are uniform. The Propionibacteria are commonly now considered to be related to Lactobacillus. The anaerobic Sarcinae do not fit in at all. Some later taxonomist might create a special family for them.

Eubacteriales.

A. Endosporales.

Endosporaceae: Gram - positive rods, mostly large, frequently motile, producing endospores.

1) Bacillus	90 species
2) Aerobacillus (Donker, emend.)	7
3) Clostridium	49

B. Asporales.

Gramoxidaceae: Gram - positive spheres or straight rods, thriving well only in the presence of air, not producing pronounced fermentation.

1) Micrococcus (including Staphylococcus, Gaffkya, Rhodococcus and most Sarcina)	62 species
2) Kurthia	2

Gramanoxidaceae: Gram-positive, non-motile slender rods or spheres, thriving best in the absence of oxygen, providing for their energy by fermentation of carbohydrates or poly-alcohols, rarely proteins.

Streptococceae:	
1) Streptococcus (including Diplococcus)	34 species
2) Leuconostoc	3
3) Peptostreptococcus (Kluyver and van Niel)	0
Lactobacilleae:	
4) Lactobacillus (+ 4 Bacteroides)	43
5) Propionibacterium	9
Sarcineae:	
6) Zymosarcina	0
7) Butyrisarcina	0
8) Methanosarcina	0

Neisseriaceae: Gram - negative, non-motile cocci.

1) Neisseria	8
2) Veillonella	9

Protobacteriaceae: Gram - negative rods (one coccus) with polar or without flagella, uncapable of growing on media containing organic compounds; depending on methane, carbon monoxide, ammonia or nitrite for energy. Multiplying very slowly.

Among the Gram-negative bacteria are 13 species which will not grow on any organic media; they are obligately prototrophic. 8 of these are the nitrate bacteria, physiologically more clearly defined than morphologically. The 3 Thiobacillus can be placed perhaps among the Thiobacteriales, but Methanomonas and Carboxydomonas cannot. Therefore, a family of obligate prototrophs must be created, with 3 groups of different bacteria in them. The Gram-negative bacteria thus begin with two small families, Neisseriaceae and Protobacteriaceae.

There are two large outstanding groups among the large number of Gram-negative species, the colon-typhoid group and the polar flagellates, both morphologically well defined and physiologically fairly good. The first group represents the real facultative bacteria, using oxygen when present and capable of providing for their energy by the fermentation of sugars when oxygen is missing.

The need for a genus name for the entire colon-typhoid group has been felt by those bacteriologists who do not agree with Castellani and Chalmers' many genera (except as trivial names). The name Enterobacteriaceae as a family

Eubacteriales (continued).

Protobacterieae:

1) Carboxydomonas	1 species
2) Methanomonas	1

Nitrobacterieae:

3) Nitrosomonas	3
4) Nitrobacter	4
5) Nitrosococcus	1

Enterobacteriaceae: Gram-negative, medium-sized rods, non-motile or peritrichous, providing for their energy by oxidation, or in the absence of oxygen, by fermentation of carbohydrates to acids, frequently with simultaneous liberation of CO_2 and H_2. Multiplying very rapidly.

1) Enterobacter (including Escherichia, Salmonella, Aerobacter, Klebsiella, Proteus, Erwinia, Eberthella, Shigella, and the gasformers of of Serratia, Pseudomonas, Flavobacterium and Achromobacter). . 112 species

Pseudomonadaceae: Gram-negative, medium-sized straight or curved rods, mostly actively motile by one or several polar flagella; thriving well only in air, multiplying more slowly than the Enterobacteriaceae.

1) Pseudomonas	138 species
2) Vibrio	22
3) Spirillum	5
4) Acetobacter	12
5) Azotobacter	6
6) Rhizobium	6

Parvobacteriaceae: Gram-negative, non-motile bacteria, smaller than most Gram-negative species. They do not liquefy gelatin, many species need blood for good growth. They seem to all grow in the absence of oxygen, a few are anaerobic.

1) Brucella	3 species
2) Pasteurella	7
3) Hemophilus (+ Dialister)	10

Bacteriaceae:

(Unclassifiable bacteria, fitting in none of the above-named genera) 222 species

name with the single genus Enterobacter is here proposed[1]). The term is not entirely inclusive since such species as Serratia, Aerobacter and Erwinia are in this group which are not intestinal. However, it is not necessary that a family or genus name describes all species.

The Pseudomonadaceae include the entire "family" of flagellated curved rods. The difference between Vibrio and Pseudomonas is very slight morphologically, and physiologically, the agreement is also very good. Spirillum must be classed with the Vibrio, a group of larger size, with more flagella and more definitely depending upon oxygen. The large mass of Bergey's green fluorescent species and 77 of the 84 Phytomonas belong here. The difficulties arise regarding the fate of those green fluorescent species and Phytomonas which are not polar flagellates. They fit with all other properties into this group, consequently their exclusion on the basis of flagellation is plainly arbitrary.

[1]) Two other names have been proposed. One is the neutral expression Virgula, the Latin name for the Greek bacterium; the other is an analogy to Gram-oxidaceae and Gramanoxidaceae, namely Hopoteroxidaceae, indicating existence in the presence as well as in the absence of oxygen. However, the name will probably be found too clumsy for continued use.

If they are included, however, it is practically impossible to give a clear definition of the family. Besides, 6 of the polar flagellates are gasformers, and might also be classed as Enterobacter. Here, the decision can be made according to the other properties.

These difficulties of intermediate forms do not become evident if one does not try to place all described species into the genera and families. While the species which do not fit into any genus or which fit into more than one genus, are certainly the main cause of all difficulties in bacterial taxonomy, they are, on the other hand, the key to evolution in bacteria.

Of the 12 species of Acetobacter in Bergey, 9 are non-motile. Kluyver and van Niel classify them all under Pseudomonadaceae. Since this group has been studied in Kluyver's laboratory extensively, it seems wise to follow his example. The same applies to Azotobacter and Rhizobium. In all three genera, it must be admitted that flagellation is not very uniform, but all three can be easily recognized as such by their other morphological and physiological properties so that no practical differences are likely to arise in the attempt to identify unknown species.

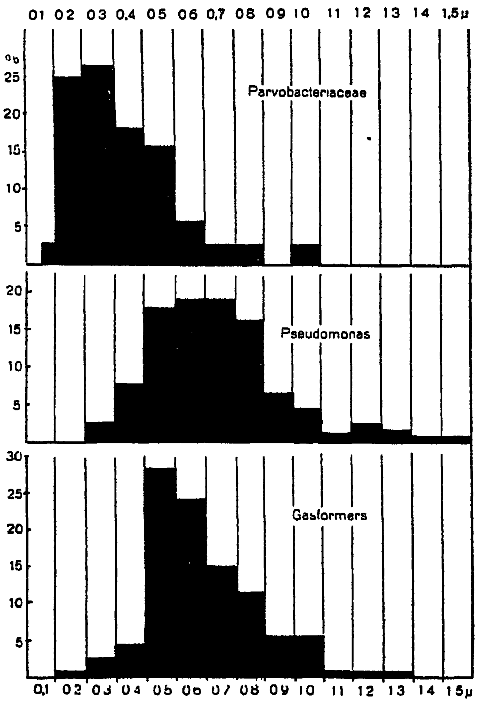


Fig. 1. Frequency of Various Diameters in Some Bacterial Groups.

Among the species left unclassified, three small groups of bacteria are outstanding as well defined in all properties:

Brucella, with 3 species, Pasteurella, with 7 species, and Hemophilus + Dialister, with 10 species. That the almost anaerobic, coccoid, non-motile Brucella is related with the larger and longer, aerobic and frequently motile Alcaligenes, does not seem probable. The above 3 genera may not be related with each other. They differ considerably in their morphology, but they are all very small, non-motile, pathogenic (i. e. rare species), non-liquefying, and most of them facultative aerobes. Fig. 1 gives the distribution of cell diameters of the Gasformers, the genus Pseudomonas, and of this small group which, on account of their size, shall be called Parvobacteriaceae. The data are taken from Bergey, and where the diameter is given as 0.3 to 0.5 μ, it has been counted graphically as 0.3, 0.4 and 0.5 μ. The chart gives the percentage distribution, and all groups are directly comparable. The polar flagellates are only very slightly larger than the Colon group, but the Parvobacteriaceae are conspicuously smaller than either, the only large

species being Pasteurella pestis. However, the relationship of this group must be considered only tentative.

In this way, of the total 860 species of Eubacteriales listed in Bergey's Manual, 640 have been placed in fairly well defined genera and families and 3 have been transferred to Thiobacteriales. This leaves still 217 species unclassified, whose origin is shown in the next Table. To these must be added

	Number of species placed in						Unclassifiable species	
	Pseudomonadaceae	Enterobacteriaceae	Lactobacillus	Bacillus	Thiobacteriales	Protobacteriaceae	Gram-negative	Gram-positive
10 Alcaligenes	0	0	0	0	0	0	8	2
86 Achromobacter . . .	18	4	0	0	0	0	55	9
10 Chromobacterium . .	3	0	0	0	0	0	6	1
33 Cellulomonas	7	1	0	0	0	0	25	0
19 Bacteroides	0	0	4	0	0	0	10	5
68 Flavobacterium . .	9	1	0	0	0	0	52	6
84 Phytomonas	77	0	0	0	0	0	4	3
31 Pseudomonas (Bergey)	19	0	0	0	0	0	11	1
5 Protaminobacter . .	0	0	0	0	0	0	5	0
17 Serratia	2	4	0	0	0	0	10	1
42 Nitrobacteriaceae . .	25	0	0	1	3	10	3	0
Placed in other genera:	160	10	4	1	3	10	—	—
Unclassifiable:	—	—	—	—	—	—	189	28

3 not gasforming Erwinia, 1 Klebsiella, 1 Listerella. With the present means of classification, it seems impossible to extricate from them any natural group, i. e. a group which is closely related within itself and is not connected with other groups by an almost complete series of intermediate forms. Practically all imagineable combinations of properties exist, and consequently, nothing but arbitrary lines of division can provide a system of nomenclature. It is interesting to note that this large number of very commonly occurring bacteria — most of them are isolated from water or soil — is entirely omitted by most taxonomists.

It is possible that other, hitherto unused criteria may unveil a clear differentiation of sub-groups and species. The author is of the opinion that the "rate of evolution" in bacteria is faster than in larger organisms. There are several reasons to assume this: 1) the enormous number of individuals on earth, assuming that ceteris paribus the rate of evolution is proportional to the number of individuals; 2) the frequency of change of environment with bacteria from the outside world to animal intestine and back, or from soil to water and back, which has no analogy with any of the higher organisms. 3) The relatively small number of "genes" in bacteria so that the change of one them causes a much greater relative change in the bacterium than it would in a larger organism (see Rahn, 1929, IV). This is borne out by an enormous literature on the variability of pigment production, of attack on different sugars, of attack of different proteins,

etc. including many "irreversible" changes. Why the Gram-positive bacteria appear much more stabilized, has not yet been explained.

The group of unclassifiable species shall be called Bacteriaceae following a suggestion by Breed and Conn (1936). The number of species is so large that for the sake of nomenclature, they may be subdivided and there is no reason why not Bergey's genera might be retained. It is understood that the genera in this "family" represent nothing but an arbitrary key division for the sake of identification. Objection is raised here only against such genera which single out a group of bacteria on account of the use of a single food compound not used in standard media (Protaminobacter, Cellulomonas, Hydrogenomonas, Phytomonas). As a rule, such special property will never be discovered, besides, it is a taxonomic impossibility. It corresponds to dividing all the numbers from 1 to 100 into three classes: Class I: divisible by 2; Class II: divisible by 3, and Class IV: divisible by 4. In such a system, 6 would belong to Class I as well as class II, and 12, 24, 36 etc. would belong to all three classes. — The joker with Cellulomonas is that bacteria readily lose the property of digesting cellulose, and rarely acquire it again. Since the genus Cellulomonas does not possess another single property in common, it could never be recognized as such.

This reduces the sub-division practically to a system on pigmentation, excepting the one anaerobic group, Bacteroides.

	Number of species	
	Gram-negative	Gram-positive
Bacteriaceae:		
Bacteroides (anaerobic) . . .	10	5
Chromobacterium (blue) . . .	6	1
Fluorescens[1]) (green)	11	1
Erythrobacterium[2]) (red) . . .	10	1
Flavobacterium (yellow) . . .	52	6
Achromobacter (colorless) . .	100	14
	189	28

[1]) The term Pseudomonas has been used with the original definition by Migula. A new genus name must be used here.

[2]) Since the name Serratia applies specifically to Bacterium prodigiosum which is placed now under Enterobacter, it would be misleading to use the same name for the remainder of the red species.

It is probable that some of the species in this family will be found to fit into the one or other of the more definitely described genera. Certainly, with the majority, this will not be the case. The author has thought at one time that the lack of pronounced physiological activity characteristic for this group might indicate that we were dealing with the rough forms of the species in the well-defined genera. This is rather probable in a few cases where the growth on agar and broth suggests a rough culture. However, this can hardly be generalized, considering that the majority of the species is motile.

It must be admitted that this system, as well all those based on morphology, will be overthrown completely if the extreme claims of microbic dissociation (Löhnis, Enderlein, Haag, Oesterle and

Percentage Distribution of all Characters.

		flagella: polar	flagella: peritrichous	flagella: motile	flagella: non-motile	Gram-positive	Capsules	pigment: Agar	pigment: Potato	glucose: acid	glucose: gas	milk: no change	milk: acid	milk: alkaline	milk: peptonized	Gelatin liquefied	Indol formed	Nitrates reduced	Optimal Temperature: 30^0 or less	Optimal Temperature: 31^0—39^0	Optimal Temperature: 40^0 or more	Pellicle
Endosporales	90 Bacillus	1	70	16	13	94	2	18	48	80	0	20	32	17	56	72	6	31	40	35	25	29
	7 Aerobacillus	14	57	29	14	100	14	14	0	100	100	14	86	0	0	84	14	57	43	43	14	14
	49 Clostridium	0	39	35	26	94	4	21	—	88	81	8	72	3	42	64	18	19	10	80	10	—
	All Endosporales:	1	58	23	18	95	3	18	—	86	35	16	46	12	47	69	9	31	30	50	20	23
Gramoxidaceae	62 Micrococcus	0	0	6	94	94	5	60	65	71	3	32	47	23	19	50	7	30	75	25	0	23
	2 Kurthia	0	100	0	0	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0
Gram-anoxidaceae	37 Streptococceae	0	0	0	100	100	22	0	0	100	0	12	88	0	6	6	0	0	25	71	4	0
	43 Lactobacillus	0	0	0	100	100	0	0	0	100	47	23	77	0	0	0	0	0	21	53	26	0
	9 Propionibacterium	0	0	0	100	100	0	44	60	100	100	0	100	0	0	0	11	0	100	0	0	0
	All Gramanoxidaceae:	0	0	0	100	100	9	4	3	100	30	15	85	0	2	2	2	0	28	58	14	0
Neisseriaceae	8 Neisseria	0	0	0	100	0	0	0	0	75	0	—	—	—	—	—	—	—	0	100	0	—
	9 Veillonella	0	0	0	100	20	0	0	0	75	67	40	60	0	20	33	42	29	0	100	0	—
Entero-bacteriaceae	86 Gasformers	0	62	7	31	1	12	7	43	100	100	7	86	38	16	34	44	74	23	77	0	42
	26 Typhoid group	0	35	11	54	0	0	4	24	100	0	11	77	35	8	24	42	42	4	96	0	20
	Enterobacter:	0	56	8	36	1	9	6	39	100	76	8	83	39	14	32	44	67	19	81	0	37
Pseudo-monadaceae	138 Pseudomonas	100	0	0	0	3	15	59	72	82	5	6	25	55	43	68	42	36	85	14	1	49
	22 Vibrio	96	0	0	4	0	0	25	60	83	9	27	62	13	20	76	28	45	50	50	0	55
	5 Spirillum	100	0	0	0	0	0	20	60	—	0	100	0	0	0	40	0	0	100	0	0	0
	12 Acetobacter	0	0	25	75	0	—	—	—	—	0	—	—	—	—	0	—	—	84	16	0	90
	6 Azotobacter	80	0	0	20	40	80	17	—	—	0	—	—	—	—	0	—	—	100	0	0	0
	6 Rhizobium	33	66	0	0	0	—	0	—	—	0	—	—	—	—	1)	—	—	100	0	0	0
Parvobacteriaceae	20	0	0	0	100	0	0	0	—	69	0	44	32	32	0	0	44	27	0	100	0	21
Bacteriaceae	224	0	41	16	43	13	4	47	50	60	0	31	37	29	21	52	11	35	74	25	1	25

Stahl, Cunningham) should be verified. Though there is considerable parallelism in the dissociations observed by these authors, they are almost universally declined by bacteriologists, and usually explained as being contaminations. This may be so, and the evidence presented so far is not sufficient to prove the extreme claims. On the other hand, the failure of others to obtain the same results does not disprove the original claims.

Summary.

The significance of morphology in multicellular organisms cannot be applied to the extreme simplicity of form in bacteria, and the general rules of taxonomy of the higher plants and animals are the wrong tool in the Bacteriaceae.

The proposed system of Eubacteriales emphasizes sporulation, Gram stain and oxygen demand as the primary characters for subdivision, in addition to cell form and flagellation.

The system proposes new families, but no new genera, so that the nomenclature is not affected. The only new genus name is Enterobacter for the colon-typhoid group. However, many of the new genera of the last 20 years have been cancelled.

About one-fourth of the Eubacteriales described in Bergey's Manual are considered "unclassifiable". By their elimination, a system emerges which is claimed to be more "natural" than previous systems. The "unclassifiable" species may remain under their present genus names in one family called Bacteriaceae, arranged in an arbitrary key system, until means for their separation into natural genera have been discovered.

Literature References.

Benians, Journ. Path. Bact. Vol. 17. 1912. p. 199. — Bergey, Manual of Determinative Bacteriology, IV. ed. Baltimore (Williams and Wilkins) 1934. — Breed and Conn, Journ. Bact. Vol. 31. 1936. p. 517. — Buchanan, Bacteriology, III. ed. New York (McMillan) 1930. — Cook and Stephenson, Biochem. Journ. Vol. 22. 1928. p. 1368. — Cunningham, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 82 u. 83. 1930/31. — Enderlein, Bakterien-Cyclogenie. Berlin (de Gruyter) 1925. — Haag, Arch. f. Hyg. Bd. 98. 1927. S. 271. — Henrici, The Biology of Bacteria. Boston (Heath) 1934. — Hucker, Exp. Stat. Techn. Bull. 100. New York (Geneva) 1924. — Jordan and Falk, The Newer Knowledge of Bacteriology. University of Chicago Press. — Kluyver and van Niel, Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 94. 1936. S. 369. — Lohnis, Journ. Agric. Research. Vol. 23. 1923. p. 401. — Lommel, Compt. rend. soc. biol. T. 95. 1926. p. 714. — Prevot, Ann. Sciences Nat. Bot. Vol. X, 15. 1933. p. 23. — Rahn, Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 50. 1920. S. 273. — Rahn, Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 78. 1929. S. 8. — Rahn, Biochem. Zentralbl. Bd. 284. 1936. S. 51. — Rahn, Journ. Bact. Vol. 32. 1936. p. 231. — Rennebaum, Journ. Bact. Vol. 30. p. 625. — Tittsler and Sandholzer, Journ. Bact. Vol. 29. 1935. p. 349. — Werkman and Gillen, Journ. Bact. Vol. 23. 1932. p. 167. — Winslow and Winslow, The Systematic Relationships of the Coccaceae. New York (Wiley) 1908.

Nachdruck verboten.

Bacterium coli in der Milch[1]).

Ein Beitrag zur Erforschung der Coli-Aerogenes-Gruppe.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Preußischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel. Direktor: Professor Dr. W. Henneberg †.]

Von **Hermann Oeser.**

Mit 3 Tafeln.

A. Einleitung.

Unter den in der rohen Handelsmilch vorkommenden, zahlreichen Bakterienarten gewinnt die Coli-Aerogenes-Gruppe für die Milchwirtschaft heute immer mehr an Bedeutung, zumal wir es innerhalb dieser Bakteriengruppe mit Mikroorganismen zu tun haben, die zum Teil zu den gefürchtetsten Milch- und Butterschädlingen gehören, welche wir kennen. Ihr Vorhandensein und ihre Vermehrung in Milch und Molkereiprodukten ist höchst unerwünscht und muß daher durch besondere Maßnahmen, wie durch äußerste Reinlichkeit bei der Milchgewinnung, Milchaufbewahrung und -verarbeitung oder durch den Prozeß der Pasteurisierung weitgehend bekämpft bzw. verhindert werden [Henneberg (58)].

Zu den durch Bakterien dieser Gruppe bedingten Schädigungen gehören das gelegentliche Schleimigwerden der Milch, das Auftreten von Bitterstoffen in Käse, Milch und Butter, sowie die Blähungserscheinungen in der Weich- und Tilsiter-Käserei [Henneberg (60/62, 66), Hüttig (79/80), Stocker (162), Scarles und Hammer (149), Hammer und Yale (50) und Yale (171)].

Das Zustandekommen solcher Milch- und Butterfehler, insbesondere der Blähungserscheinungen bei Weichkäsen, ist auf Grund neuerer Anschauungen zum wesentlichen durch die „Disposition" der Rohmilch bedingt [Hüttig (79, 80)].

Außerdem verdient das Vorkommen der Coli-Aerogenes-Bakterien in Rohmilch und Molkerei-Erzeugnissen besondere Beachtung durch die Tatsache, daß sich unter diesen Bakterien gelegentlich menschenpathogene Rassen befinden. Aus der Literatur sind uns mehrere Fälle bekannt, in denen nach Genuß von nichtpasteurisierter Milch sowie von Molkereierzeugnissen Krankheitserscheinungen, zum Teil sehr heftiger Art, aufgetreten sind, für deren Zustandekommen pathogene Coli-Aerogenes-Keime verantwortlich zu machen waren. Mit der Entstehungsursache dieser milchwirtschaftlich bedeutsamen Erkrankungen, die sich im Auftreten von Darmkatarrhen und Diarrhoen äußern, haben sich Axel Holst (73), Gaffky (40), Abraham (1) und Gustavson (48) näher befaßt. Die von Abraham (1) und Jansen und den Doren de Jong (82) ausgesprochene Vermutung, wonach zwischen der Intensität der Kohlehydratvergärung und der Bakterienvirulenz gewisse Beziehungen bestehen sollen,

[1]) Erschienen als Dissertation der Philosophischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität Kiel.

scheint, wie Kähler (87) bei seinen Arbeiten über pathogene Dyspepsie-Coli-Bakterien zeigen konnte, jedoch nicht zu Recht zu bestehen.

In diesem Zusammenhang muß auch auf die gelegentlich bei Milchkühen auftretende Coli-Mastitis hingewiesen werden, einer Euterentzündung, welche nicht, wie gewöhnlich, durch den Streptococcus agalactiae, sondern ebenfalls durch pathogene Colirassen hervorgerufen wird [Kitt (90), Nystedt (135) und Smith und Henderson (159)]. Wie Nystedt gezeigt hat, können die Erreger der Colimastitis hin und wieder auch für den Menschen pathogen sein. Nähere Einzelheiten bringt die Arbeit von Smith und Henderson, in welcher auch die physiologischen Merkmale der toxischen Coli-Mastitis-Stämme festgelegt sind, so daß weiterhin keine Zweifel mehr über die Zugehörigkeit der Mastitisstämme zur Coligruppe bestehen.

Abgesehen von der Fähigkeit des Bacterium coli, in geringem Maße auch Eiweißkörper abzubauen (Indolbildungsvermögen), kommt diesem Organismus eine sehr wichtige regulatorische und antagonistische Funktion im Darm zu. Diese äußert sich darin, daß die von den Colibakterien aus den Kohlehydraten der aufgenommenen Nahrung gebildete Milchsäure wachstumshemmend auf Darmfäulnisbakterien und andere schädliche Mikroorganismen, wie Paracoli-, Dyspepsie-Coli-Bakterien oder Vertreter der pathogenen Salmonella-Eberthella-Gruppe einwirkt und diese im Darm zurückdrängt oder ganz zum Verschwinden bringt. Auf der Erkenntnis der Wichtigkeit solcher antagonistisch hochwertigen Colistämme als Regulatoren einer normalen Darmtätigkeit beruht auch die von Nißle (133, 134) begründete „Mutaflor"-Behandlung, die sich in einer Anzahl schwerwiegender Fälle von Darmerkrankungen bewährt hat. Die Auswahl der im therapeutischen Präparat „Mutaflor" vorliegenden antagonistisch hochwertigen Colistämme bereitet jedoch infolge der bis heute noch nicht mit absoluter Sicherheit möglichen Unterscheidung der nichtpathogenen von den pathogenen Rassen der Coli-Aerogenes-Gruppe große Schwierigkeiten, so daß Henneberg (63/65) vorschlug, das Überhandnehmen der schädlichen Colirassen im menschlichen Darmtraktus durch Einverleibung besonders kräftig säuernder menscheneigener Milchsäurebakterien vom Typ des Thermobacterium acidophilum zu verhindern [s. auch Kähler (87)].

B. Aufgabe und Ziel der Arbeit.

Die große Anzahl der uns aus der Literatur bekannten Arbeiten über die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe läßt erkennen, daß wir es innerhalb dieser Bakteriengruppe mit einer Fülle verschiedener Rassen zu tun haben, die alle mehr oder minder miteinander verwandt sind. Alle Bakterien dieser umfangreichen Gruppe verhalten sich gramnegativ und sind ausgezeichnet durch die Fähigkeit Glukose und Laktose unter Säure- und Gasbildung mehr oder weniger weitgehend zu zerlegen.

In der vorliegenden Arbeit interessierte in Anbetracht der so überaus großen Bedeutung der Milch als Volksnahrungsmittel vor allem die Frage, welche hauptsächlichen Vertreter der in Rede stehenden Bakteriengruppe in der rohen Marktmilch vorliegen.

Zu diesem Zwecke wurde eine größere Anzahl von gramnegativen, laktosevergärenden Kurzstäbchen (164 Stämme) aus Rohmilch isoliert und ihre morphologischen, kulturellen und physiologischen Eigenschaften ermittelt.

Auf Grund des unterschiedlichen Verhaltens der Stämme gegenüber der Voges-Proskauerschen Reaktion, der Saccharose-, Salicin- und Dulcit-Vergärungsprobe ließen sich 12 Untergruppen aufstellen. Außerdem erfolgte eine systematische Gegenüberstellung der 164 untersuchten Coli-Aerogenes-Stämme hinsichtlich der sich aus den erweiterten Ruchhoft, Kallas, Chinn und Coulterschen (147) Reaktionskombinationen ergebenden Teilgruppen (vgl. Tab. 1 und 2).

C. Übersicht über die bisher bekannten Vertreter der Coli-Aerogenes-Bakterien und ihre Systematik.

Als erster Organismus der Coli-Aerogenes-Gruppe ist der saccharosevergärende Bacillus neapolitanus Emmerich (der vermeintliche Erreger der asiatischen Cholera) 1884 von Emmerich (33) aufgefunden und von Buchner (10) und Weisser (166) beschrieben worden.

1886 isolierte Escherich (34, 35) das Bact. coli commune und das Bact. lactis aerogenes aus Stuhlproben von Brustkindern und bezeichnete sie als obligate Milchkotbakterien.

Diese beiden Bakterien sind die Hauptvertreter der Coli-Aerogenes-Gruppe. Außer ihnen gibt es noch eine große Anzahl von Zwischenformen, die in einem oder mehreren ihrer Merkmale von den beiden Grundtypen abweichen. Die Untersuchungen der letzten 30 Jahre haben gezeigt, daß andererseits auch zahlreiche Übergangsformen, sowohl zwischen dem Bact. coli commune und dem Bact. typhi als auch zwischen dem Bact. lactis aerogenes und dem gelatineverflüssigenden Bact. cloacae (Jordan) existieren. Das Bact. cloacae wiederum leitet hinüber zur Proteusgruppe.

Auf Grund der Untersuchungen von MacConkey (124), Clemesha (17), Johnson (84), Levine (117, 118), Koser (100, 101) und anderen Autoren steht heute fest, daß das Bact. lactis aerogenes im Gegensatz zum darmbewohnenden Coli-Bacterium in der Hauptsache im Erdboden zu Hause ist, und nur verhältnismäßig selten in menschlichen Faecesproben vorkommt; wenn es in den Faeces angetroffen wird, so ist dies zumeist auch nur der Fall nach Ernährung mit milchhaltiger Kost. MacConkey fand es unter 241 aus menschlichen Faecesproben isolierten Stämmen nur 4mal.

Die von Escherich stammende Beschreibung der Merkmale des Bact. coli commune und des Bact. lactis aerogenes ist aus jedem bakteriologischen Handbuch ersichtlich, so daß sich an dieser Stelle eine Wiedergabe derselben erübrigt.

Kurz vor der Auffindung des Bact. coli commune durch Escherich hatte Hueppe (77) gelegentlich seiner Studien über die Milchsäuregärung in der spontan gesäuerten Milch einen Organismus aufgefunden, den Zopf (172) Bact. acidi lactici (Hueppe) genannt hat und der infolge seiner wenig ausführlichen Beschreibung sowie seiner großen Ähnlichkeit mit dem Bact. lactis aerogenes von einer Reihe von Autoren, wie Kruse (108), Lehmann und Neumann (110, 111), Löhnis (123) und Conradi und Bierast (18) für identisch mit dem Bact. lactis aerogenes befunden wurde. In der Literatur herrschen auch heute noch die größten Unstimmigkeiten über die systematische Stellung dieses Bacteriums innerhalb der Coli-Aerogenes-Gruppe.

Als eine Milch nicht dicklegende, stark schleim- und kapselbildende Abart des Bact. acidi lactici (Hueppe) ist das menschenpathogene Bact. pneumoniae (Friedlaender) aufzufassen [vgl. Löhnis (123)].

Das 1902 von Bernh. Fischer (37) beschriebene Bact. grünthali (Fischer) dürfte vermutlich mit dem Emmerichschen B. neapolitanus identisch sein.

Um die Jahrhundertwende war bereits eine große Anzahl von Coli-Varianten bekannt, welche jedoch zum größten Teil nur außerordentlich dürftig beschrieben worden sind, so daß hier nicht näher auf sie eingegangen zu werden braucht [siehe Scholl (151), Migula (131), Lembke (114—116), Kruse (108) und Bernh. Fischer (37)].

Eine Abgrenzung des typischen Fäkalcoli Bact. coli commune vom Bact. lactis aerogenes wurde bereits von Escherich (34) selbst vor-

genommen, und zwar auf Grund ihrer verschiedenen morphologischen Eigenschaften sowie hinsichtlich der Form ihrer Kolonien beim Wachstum auf Gelatineplatten.

1893 haben Gilbert und Lion (43) sowohl bei den Coli- als auch bei den Aerogenes-Bakterien mancherlei Abweichungen vom Normaltyp festgestellt, was sie zu einer systematischen Einteilung der Coli-Aerogenes-Bakterien veranlaßte. Bewegungs- und Indolbildungsvermögen, ferner die Art des Wachstums in Laktosebouillon und in Milch wurden von Gilbert und Lion für die wesentlichen Unterscheidungsmerkmale angesehen.

Smith (157, 158) richtete bei seinen systematischen Untersuchungen über die Coli-Aerogenes-Bakterien aus Trinkwasser sein Hauptaugenmerk auf das Vergärungsvermögen gegenüber Kohlehydraten, insbesondere gegenüber Dextrose, Laktose und Saccharose und ermittelte die Menge des von den Bakterien gebildeten Gärungsgases, ferner dessen quantitative Zusammensetzung an Wasserstoff und Kohlendioxyd. Hierbei ergaben sich wesentliche Unterschiede. Das Bact. lactis aerogenes bildet in Glukosebouillon erheblich mehr Gas als das Bact. coli, wobei der Anteil an entstandenem CO_2 im Vergleich zum H_2-Anteil zumeist überwiegt (high ratio); bei den Colibakterien dagegen setzt sich das Gas ungefähr zu 3 Teilen aus H_2 und zu 2 Teilen aus CO_2 zusammen (low ratio). Die Untersuchungsbefunde von Smith bezüglich der Menge und Zusammensetzung der in Glukosebouillon gebildeten Gärungsgase fanden später durch Burri und Düggeli (13), Frieber (38), Rogers, Clark und Davis (145) und Rogers, Clark und Evans (146) ihre Bestätigung.

Smith (158) unterschied 2 Coli-Varietäten, die sich nur in bezug auf die Saccharosevergärung abweichend verhielten; die Varietät α bildete in Saccharosebouillon Säure und Gas, die Varietät β dagegen nicht.

Sehr eingehend hatte sich Durham (28) mit dem Fermentierungsvermögen der Coli-Aerogenes-Bakterien befaßt und bei seinen Versuchen ähnliches wie Smith gefunden. Die im Jahre 1901 von Durham aufgestellte Coli-Systematik ist das erste brauchbare Einteilungsschema für die Coli-Aerogenes-Bakterien, welches, abgesehen von einigen späteren Erweiterungen durch MacConkey (124, 125), Bergey und Deehan (4), Jackson (81), Kligler (94), Levine (119), Castellani und Chalmers (14), Winslow, Kligler und Rothberg (170) und Bergey (3) (Hinzuziehung der Dulcit- und Salicin-Vergärungsprobe, der Voges-Proskauerschen Reaktion und Methylrotprobe sowie Prüfung auf Gelatineverflüssigung und Nitratreduktion) in seinen wesentlichen Grundzügen Gültigkeit beibehalten hat und heute in der Modifikation von Bergey zu allgemeiner Bedeutung gelangt ist.

Bergey (3) verteilte die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe auf mehrere Genera der Familie der Bacteriaceae. Die beiden Hauptgenera „Genus Escherichia" mit 22 Spezies und „Genus Aerobacter" mit 7 Spezies entsprechen den Untergruppen Bact. coli und Bact. lactis aerogenes. Die kapselbildenden Aerogenes-Rassen faßte Bergey in einem besonderen „Genus Klebsiella" zusammen. Ferner hob er die phytopathogenen Rassen aus der Coli-Aerogenes-Gruppe heraus und brachte sie, zusammen mit anderen, völlig artfremden Bakterien in „Genus Erwinia" unter. Auf diese Unzulänglichkeiten des Bergeyschen Einteilungsprinzips hat bereits Rahn (141) hingewiesen.

Neuerdings pflegen manche amerikanische Forscher, wie z. B. Werkman und Gillen (168) und Parr (139) die zitratpositiven Coli-Aerogenes-Formen als Angehörige eines neuen „Genus Citrobacter" zu betrachten. Ob es jedoch zweckmäßig ist, die sehr umfangreiche Coli-Aerogenes-Gruppe in noch weitere Genera als in Genus Escherichia und Genus Aerobacter aufzuteilen, erscheint zweifelhaft, wenn man berücksichtigt, daß es gelingt, durch Anwendung immer neuer Differenzierungsmethoden eine noch weitere Unterteilung der Coli-Aerogenes-Gruppe herbeizuführen.

Beispiele für die Möglichkeit einer weiteren Differenzierung innerhalb der Coli-Aerogenes-Gruppe haben die Untersuchungen folgender Autoren gegeben:

Jones und Wise (83): Cellobiose-Vergärungsprobe,
Weintraub (165): Glukosidspaltung,
Hees und Tropp (56) und Koser und Saunders (105): Vergärungsversuche mit substituierten Kohlehydraten,
Silberstein, Rappaport und Kolmer (155): Siazucker,
Dozis, Hachtel, Carr und Krantz (25): Höhere Alkohole und deren Anhydride,
Leifson (113): Natriummalonat-Probe.

Speziell mit der Untersuchung der in Milch und Milchprodukten vorkommenden Coli-Aerogenes-Bakterien haben sich Maulhardt (130), Hausam (55), Hüttig (78), Hammer und Yale (50), Yale (171), Malcolm (127) sowie Demeter und Sauer (21) befaßt.

D. Gang der Untersuchungen.

I. Methodik der Isolierung und Reinzüchtung der Stämme.

Die Milchproben, die zur Isolierung der in vorliegender Arbeit benutzten Coli-Aerogenes-Bakterienstämme erforderlich waren, wurden in der Lehrmeierei der Preußischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel genommen. Die Entnahme der Rohmilchproben erfolgte in der Regel aus den gefüllten Milchkannen einzelner Lieferanten, zum anderen aus dem an der Milch-Wäge-Einrichtung befindlichen, ungefähr 200 l Milch fassenden Sammelbehälter. Eine Ausnahme bildeten die Stämme 9, 57, 75, 83, 88, 118 und 162. Diese wurden aus einer beanstandeten Buttermilchprobe isoliert. Ebenfalls rührte Stamm 14 nicht aus Rohmilch her, sondern aus einer kondensierten Milch, deren Dosendeckel durch Bombage aufgetrieben waren. Die Isolierung der einzelnen Stämme geschah entweder nach Anreicherung von 1 ccm der zu untersuchenden Milchprobe in einem der folgenden Anreicherungsnährböden oder direkt durch Ausspateln von etwas Rohmilch auf Endoagarplatten. Als Anreicherungsnährmedien diente entweder Galle-Pepton-Gentianaviolett-Laktose-Bouillon nach Keßler und Swenarton (88), Trypaflavin-Laktose-Lösung nach Klimmer, Haupt und Borchers (95), farbstoff-freie Galle-Pepton-Lösung oder sterile Magermilch in flacher Schicht (in Petrischalen). Beide gramelektiven Nährböden haben sich gut in der bakteriologischen Laboratoriumspraxis bewährt [Klang (91), Demeter (19, 20), Demeter, Sauer und Miller (22)]. Weitere Anreicherungsnährböden für Coli-Aerogenes-Bakterien kamen nicht zur Anwendung.

Die Anreicherungen in den beiden zuckerhaltigen Selektivnährböden wurden in Dunbarschen Gärröhrchen (26) vorgenommen, um die bei erfolgreicher Anreicherung von Coli-Aerogenes-Keimen auftretende Gasentwicklung bequem sichtbar zu machen.

Zu den sogenannten „presumptive" (mutmaßlichen) Testmedien, welche praktische Bedeutung erlangt haben, gehören außer der gewöhnlichen Standard-Laktose-Bouillon und den hier benutzten Lösungen noch Brillantgrün-Laktose-Galle-Lösung[1]) (Standard Methods, 1933), das Dominick und Lautersche Medium (23), Kristallviolett-Laktose-Bouillon nach Salle (148) und die basische Fuchsin-Laktose-Bouillon nach Ritter (144).

Die Anreicherungen wurden für gewöhnlich 24 Std., in einigen Fällen auch 48 Std. bei 37° bebrütet und hernach etwas von dem angereicherten Bakterienmaterial mit Hilfe des Plattengußverfahrens auf Endoagar überführt. Die Magermilchanreicherungen (Petrischalen) hingegen gelangten nach 5tägigem Belassen bei Zimmertemperatur (ungefähr 19°) zur Weiterverarbeitung.

Bei der direkten Untersuchung wurde mit der Impföse ein wenig von der betreffenden Rohmilchprobe auf eine vorgetrocknete Endoagarplatte gebracht und vermittels eines Drigalski-Glasspatels auf der Agarfläche ausgestrichen.

---

[1]) Die Brillantgrün-Laktose-Lösung soll nach den Befunden von Horwood und Heifetz (75) sowie nach Shunk (154) die geringste Hemmungswirkung auf die in Rede stehenden Bakterien ausüben und daher allen anderen Medien vorzuziehen sein. Die zuletzt genannten vier Anreicherungsproben fanden in der vorliegenden Arbeit keine Berücksichtigung, da der Wert dieser Methoden erst nachträglich bekannt wurde.

Bei allen Endoagarplatten betrug die Bebrütungszeit 24 Std. Die Bebrütungstemperatur lag zumeist bei 37°, seltener bei 30°. Bis zur Abimpfung der Kolonien wurden die Platten noch 4—5 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Kolonien mit und ohne Fuchsinglanz (Metallglanz) sowie dunkelrosa wachsende Kolonien gelangten zur Isolierung, starke Schleimbildner dagegen nur in geringem Maße. Nach Anlegen von 5 Plattenpassagen auf Bouillonagar wurden die 164 insgesamt isolierten Stämme auf Reinheit gepruft und als Reinkulturen auf Schrägagar ubertragen.

II. Morphologische Eigenschaften.

Zur Feststellung der morphologischen Eigenschaften der Coli-Aerogenes-Bakterien erwies sich das Federstrich-Kulturverfahren, welches von Lindner (122) und später von Henneberg (57) verwendet wurde, am geeignetsten. Von allen Stämmen wurden Federstriche in Nährbouillon und zu einem späteren Zeitpunkt auch solche in Vollmilch angelegt.

a) Die Bouillonfederstrichkultur.

In den weitaus meisten Fällen zeigte das mikroskopische Bild 2—4 μ lange und 0,6—1,0 μ breite Kurzstäbchen mit mehr oder weniger stark abgerundeten Enden. Die Aerogenesbakterien waren im allgemeinen etwas kürzer und dicker als die ein wenig schlanker gestalteten Colibakterien. Auch ließen die Aerogenesbakterien in ihrem Innern, besonders aber an den Polen häufig Strukturen erkennen, die auf ein Vorhandensein von Zellinhaltsstoffen hindeuten.

Die typischen Aerogenesbakterien wuchsen in den Bouillonfederstrichen zumeist als Einzelformen und in mehr oder weniger deutlichen, durch Schleimbildung bedingten Abständen. In den Colifederstrichen waren immer Diploformen und häufig auch noch kurze Ketten von 4—6 Gliedern neben den Einzelformen vorhanden. 7 Colistämme (Stamm 10, 38, 42, 44, 66, 76 und 117) hatten im Bouillonfederstrich wunderschöne, lange Ketten ausgebildet, z. T. mit annähernd 100 Gliedern (Tafel I, Abb. 2—4 und Tafel II). In einem späteren Kapitel wird auf die Erscheinung der Kettenbildung näher eingegangen. Häufig traten in den Colifederstrichen neben den normalen Zellformen lange fadenförmige Zellen auf (Tafel II, Abb. 12); irgendwelche Bedeutung für die Systematik scheint den Fadenzellen jedoch nicht zuzukommen.

Ernährungsphysiologische Versuche ließen erkennen, daß das Größenwachstum der Coli-Aerogenes-Bakterien weitgehend von der Art der Ernährung abhängig ist. Insbesondere muß hierbei den Phosphat- und Stickstoffverbindungen des Nährbodens eine besondere Bedeutung beigemessen werden.

b) Die Gramfärbung.

Die untersuchten Coli-Aerogenes-Bakterien waren unter normalen Bedingungen stets gramnegativ.

Einige Stämme zeigten dagegen, insbesondere nach längerer Züchtung auf Laboratoriumsnährböden, labiles Verhalten bei der Gramfärbung. Vor allem waren dieses solche Stämme, bei denen im Zellinnern gelegentlich körnige Strukturen beobachtet worden sind. Eine Identifizierung dieser Zellstrukturen mit dem Reservestoff Volutin gelang jedoch nicht.

Über Zellstrukturen bei Coli-Aerogenes-Bakterien, die auf Grund der Einwirkung von Bakteriophagen entstehen können, berichtet die Arbeit von Majer (126).

Der Ausfall der Gramfärbung ist bis zu einem gewissen Grade durch die Art der Zellernährung zu beeinflussen. Bei Überfütterung der Zellen in Bouillon mit der 4 fachen Menge Pepton fiel die Gramfärbung nach Anlegen von 6 Passagen regelmäßig bei Stamm 38, 42 und 44 positiv aus; negativ dagegen, wie gewöhnlich, bei Züchtung der Stämme in einfacher Nährbouillon oder in Magermilch.

c) Das Bewegungsvermögen der Coli-Aerogenes-Bakterien.

Die Prüfung der Beweglichkeit wurde an Hand der 24 Std. alten und bei 37° bebrüteten Bouillon-Federstrichkulturen vorgenommen. In all denjenigen Fällen, wo die Feststellung der Eigenbewegung Schwierigkeiten bereitete, kam dann eine Spur Kondenswasser, welches sich im unteren Röhrchenteil einer 24 Std. alten, bei 30° bebrüteten Bouillonschrägagarkultur angesammelt hatte, im hängenden Tropfen zur mikroskopischen Betrachtung. Gelang auch hierdurch nicht der sichere Nachweis der Eigenbewegung, so wurden schließlich die Bouillon-Federstrichkulturen bei 30° wiederholt und nach 6 Std., 24 Std., 48 Std. und 5 Tagen mikroskopiert. Der p_H-Wert beider Nährböden betrug 7,4. Sehr wertvolle Dienste leistete bei der Feststellung der Eigenbewegung schließlich auch die Vollmilch-Federstrichmethode.

Bei einer ganzen Reihe von Stämmen konnte in den Federstrichkulturen nur eine ganz verschwindend kleine Anzahl von Zellen, manchmal sogar nur 2—3 Zellen, als beweglich erkannt werden, während die große Mehrzahl der Zellen völlig unbeweglich war.

Haben Lehmann und Neumann (111) und Migula (131) den Hauptwert bei ihrer systematischen Einreihung der Bakterien auf das Vorhandensein oder Fehlen der Eigenbewegung gelegt und die Abtrennung der Coli- von den Aerogenesbakterien lediglich auf Grund dieses einen Merkmals vorgenommen, so sprechen Howe (76), Durham (28), MacConkey (124/125), Jordan, Caldwell und Reiter (86) der Prüfung auf Beweglichkeit mehr oder minder jede systematische Bedeutung innerhalb der Coli-Aerogenes-Gruppe ab.

Bergey (3) hingegen macht, wie später eingehender erörtert wird, noch einen Unterschied zwischen beweglichen und unbeweglichen Spezies.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen erscheint die strenge Unterteilung der in Milch vorkommenden Coli-Aerogenes-Bakterien in bewegliche und unbewegliche Spezies nicht ganz zutreffend, denn in manchen Fällen war die Feststellung eines Bewegungsvermögens nur außerordentlich schwierig, bei einigen Stämmen überhaupt nicht mit Sicherheit zu treffen (z. B. bei Stamm 8, 26, 38, 54, 77, 85, 105, 106 und 107).

Neuerdings wissen wir durch die Veröffentlichung von Stearn und Stearn (161), daß auch die Reaktion des Nährmediums von sehr wesentlichem Einfluß auf die Beweglichkeit der verschiedensten (beweglichen) Bakterienarten sein kann. Die genannten Autoren gelangten zu der Feststellung, daß bei einem p_H-Wert des Nährbodens von $p_H = 5,15—5,45$ jede Beweglichkeit des Bact. coli commune aufhört, und daß andererseits eine schwach alkalische Reaktion ($p_H = 8$) eine günstige Wirkung auf dessen Beweglichkeit ausübt.

d) Die Vollmilchfederstrich-Kulturmethode.

Die Vollmilch-Federstrichmethode, welche ursprünglich von Henneberg (57) zur Prüfung des Fettspaltungsvermögens der verschiedenen Buttereischädlinge angewendet wurde, gab in hervorragendem Maße Aufschluß über ein etwa vorhandenes Schleimbildungsvermögen. Besonders trat hier in den Vollmilch-Federstrichen (Bebrütung 48 Std. bei 30°) auch die charakteristische Zellenanordnung der Aerogenes- und einiger verwandter Bakterienrassen zu kleinen Zellgruppen und -klumpen hervor. Innerhalb dieser Zellklumpen lagen die einzelnen Bakterienzellen bei den Aerogenes- und aerogenesähnlichen Bakterien fast immer, hingegen bei einigen Colibakterien nur gelegentlich in Schleimabständen. Zur Sichtbarmachung dieser Schleimabstände eignete sich die Milch-Federstrichkulturmethode viel besser als die Bouillon-Federstrichkultur (Taf. II, Abb. 9—14).

Einige der untersuchten Stämme bildeten in den Vollmilch-Federstrichkulturen zwar Zellklumpen, zeigten aber keine Schleimabstände (Taf. II, Abb. 10). Auch konnten Kristalle bei manchen der zur Zellklumpen- wie Schleimbildung neigenden Stämme in den Vollmilch-Federstrichkulturen beobachtet werden (Taf. II, Abb. 14).

Bei Anwesenheit von Bakteriophagen ist von verschiedenen Autoren häufig eine Schleimbildung festgestellt worden. Die Vermutung lag nahe, die bei einigen Colistämmen (Stamm 36, 42 und 66) gelegentlich — nicht immer — in den Vollmilch-Federstrichen und Bouillonagar-Deckglaskulturen aufgetretene Schleimbildung auf eine Infektion mit Coliphagen zurückzuführen. Zur Prüfung dieser Vermutung wurde ein Phagennachweisversuch durchgeführt, der jedoch negativ verlief.

Zur Fettspaltung im Vollmilch-Federstrich war nur der Gelatine verflüssigende Cloacaestamm 164 befähigt.

Als besonders charakteristische Erscheinung fiel bei vielen Colistämmen eine eigentümliche geldrollenartige Anordnung mancher Bakterienzellen in der Vollmilch-Federstrichkultur auf, über deren Zustandekommen später noch eingehend berichtet wird.

III. Die Abgrenzung der Coli-Aerogenes-Bakterien von den Begleitorganismen.

Zum Zwecke der Abgrenzung der Coli-Aerogenes-Bakterien von den Mikroorganismen der Paratyphus-Typhus-Gruppe einerseits und der Proteus- und Alcaligenesgruppe andererseits (bei Bergey: Genera XX Proteus, XXI Salmonella, XXII Eberthella, XXIII Shigella, XXV Alcaligenes) wurde eine Reihe verschiedener differentialdiagnostischer Hilfsmittel angewendet, die sich gut bewährt haben.

a) Beim Wachstum in der Neutralrotagar-Schüttelkultur nach Rothberger und Scheffler (150) zeigten sich mancherlei Unterschiede hinsichtlich der Gasbildung, Fluoreszenz und Farbstoffreduktion. Die typischen Coli- und Aerogenesbakterien bildeten im allgemeinen reichlich Gas und zeigten deutlich die gelbe Fluoreszenzfarbe. Der Grad der Zerklüftung des Agars wurde in 5 Stufen, die Reduktion des Nährbodens in 3 Stufen bewertet.

b) Die zur Unterscheidung der Colibakterien von den weiter oben erwähnten Begleitorganismen benutzten Barsiekowschen Nährböden (2) [vgl. Ehrismann (30) S. 285] waren unter Verwendung von leicht-

löslichem Natriumcaseinat (Nutrose) bereitet worden und enthielten entweder 1% Dextrose (Barsiekow-Lösung I) oder 1% Laktose (Barsiekow-Lösung II). Fast alle Vertreter der Coli-Aerogenes-Gruppe riefen eine starke Säuerung beider Zuckerarten und eine Ausscheidung des Kaseins hervor, die artfremden Bakterien dagegen nicht. Die Versuche haben gezeigt, daß die Barsiekowschen Nährlösungen in der Tat als wertvolles Hilfsmittel bei der Unterscheidung der Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe von den übrigen in der Milch vorkommenden Bakterienarten (z. B. Alkaligenesbakterien, fluoreszensähnliche Formen und Herbicolaarten) anzusehen sind.

c) Der nach dem Sterilisieren weinrot bis schokoladenbraun gefärbte (Neutralrot und Azolithmin) polytrope Nährboden nach Lange (109) [vgl. Ehrismann (30) S. 288] wurde durch die Wachstumstätigkeit der Coli-Aerogenes-Bakterien in ziemlich einheitlicher Weise verändert. Das aus dem hinzugefügten Milchzucker und Mannit entstandene Gärungsgas sammelte sich z. T. im Durham-Einsatzröhrchen an. Die Farbe der Kulturflüssigkeit war nach 48 Std. in den Durham-Röhrchen gelb; in der Außenflüssigkeit der Röhrchen orange. Nur Stamm 101 verfärbte den polytropen Nährboden schmutzigbraun. Die als Begleitbakterien gefundenen Herbicolastämme riefen eine violett- bis kirschrote und die Alcaligenesstämme eine blaugrau- bis schmutzig gelbbraune Verfärbung des „P. N.“ hervor.

d—g) Die Nährböden der bunten Reihe. [Chinablau-Traubenzuckeragar nach Bitter (5), vgl. Henneberg (59), Kongorotagar nach Liebermann und Acél (121), Metachromgelb-Wasserblauagar nach Gaßner (41) und Trypaflavinagar I nach Klimmer, Haupt und Borchers (95).] Die Kolonieform der Coli-Aerogenes-Bakterien war auf den 4 Nährböden der bunten Reihe annähernd die gleiche. Die Aerogenesbakterien und manche der Coli-Aerogenes-Intermediärformen gediehen viel üppiger als die Colibakterien und bildeten konvexe, stark feuchtglänzende Kolonien. Die Farbe der Coli-Aerogenes-Kolonien war auf Chinablau-Traubenzuckeragar bläulich, auf Kongorotagar blauschwarz bis bläulich grau, auf Gaßner-Agar dunkelgrün bis dunkel-blaugrün, auf Trypaflavinagar I (ohne Bromthymolblau hergestellt) gelb bis dunkelgelb.

IV. Weitere kulturelle und physiologische Merkmale.

a) Das Wachstum in Bouillon.

Bei Züchtung der Stämme in Liebigscher Nährbouillon konnten verschiedene Unterschiede bei den einzelnen Stämmen festgestellt werden. Für gewöhnlich fanden innerhalb der ersten 24 Std. bei 37° Trübung der Bouillon und eine geringe Ausbildung eines Bodensatzes statt, welche im Laufe weiterer 24 Std. beträchtlich zunahmen. Nur wenige Stämme wuchsen in Bouillon sowohl bei 37° als auch bei 30° zunächst recht träge; nach längerer Fortzüchtung dieser Stämme auf Bouillonschrägagar trat allmählich kräftigeres Wachstum in Bouillon ein.

Häufig entstand an der Oberfläche der Kulturflüssigkeit ein zartes Häutchen und an der Röhrchenwand eine mehr oder weniger deutliche Ringbildung. In manchen Fällen sank das Häutchen bald zu Boden, teils als ganzes, teils als kleine Hautfetzen. Nach 48 stünd. Bebrütung bei 37°

und 3 tägiger Aufbewahrung der Bouillonkulturen bei Zimmertemperatur wurde die Beschaffenheit des Bodensatzes mit der Impfnadel geprüft. Normalerweise war der Bodensatz seidig-wolkig, schlierig und beim Aufwirbeln des Röhrcheninhalts homogen zur Zerteilung zu bringen; manchmal war er klebrig und zusammenhängend, häutig-fetzig oder auch grob- bis feinklumpig und ließ sich beim Aufwirbeln dann nicht immer zur Suspension bringen. Nicht selten wurde auch, vor allem bei den Aerogenesbakterien, eine Schleimbildung in den Bouillonkulturen festgestellt.

Der Geruch der Bouillonkulturen war in den meisten Fällen fäkalartig und bei 2 Stämmen fischig; bei einer ganzen Anzahl von Stämmen fehlte ein charakteristischer Geruch.

Vier Wochen alte Bouillonkulturen waren nur noch schwach getrübt. Bouillon und Bodensatz besaßen dann eine schwach bräunliche Färbung; die Ringbildung war krustenförmig verdickt und der Geruch der Kulturen meist fäkalartig bis aromatisch-faulig.

b) Das Wachstum auf Bouillonagar.

Bei 14 tägigem Wachstum auf Bouillonagar in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur konnten verschiedene Riesenkolonieformen beobachtet werden. Die typischen Colibakterien bildeten im allgemeinen ziemlich flache, mehr oder weniger stark feuchtglänzende, durchsichtige bis opalartig durchscheinende Kolonien, die Aerogenesbakterien und manche Coli-Aerogenes-Intermediärformen dagegen Riesenkolonien, die durch ein undurchsichtiges, stärker feuchtglänzendes und häufig auch schleimiges Aussehen gekennzeichnet waren.

Im ganzen konnten 11 Typen unterschieden werden. Eine allzu große Bedeutung, wie Bergey (3) und György (49) annehmen, kommt der Riesenkoloniebildung nicht zu, da schon die geringsten Schwankungen in der Zusammensetzung des Nährbodens, vor allem in bezug auf dessen Feuchtigkeitsgehalt und Wasserstoffionenkonzentration, starke Veränderungen der Kolonieform zur Folge haben [vgl. Kořínek (97) und Stearn und Stearn (161)].

Farbstoffbildende Vertreter der Coli-Aerogenes-Gruppe, wie sie von Holliger (72), Eisenberg (32), Lehmann und Levy [zit. nach Lehmann und Neumann (111)], Stutzer und Kwashina (163) und Oesterle (136) mehr oder weniger ausführlich beschrieben worden sind, wurden unter den Stämmen der vorliegenden Arbeit nicht angetroffen.

c) Das Wachstum im Gelatinestich.

Beim Wachstum im Gelatinestich bei Zimmertemperatur konnten nach 14 Tagen 12 verschiedene Wachstumstypen unterschieden werden. Eine Verflüssigung des Gelatinenährbodens trat im Laufe dieser Zeit nur bei dem einen Aerogenes-Cloacae-Stamm 164 ein.

d) Das Wachstum in Lackmusmilch.

Beim Wachstum in Lackmusmilch bei 37° war in den weitaus meisten Fällen schon nach 48 Std. eine völlige Dicklegung der Milch durch die aus dem Milchzucker der Milch entstandene Milchsäure erfolgt. Die dabei ausgefällten Kaseinmassen hatten zumeist die Gestalt eines mehr oder weniger

stark zusammengesinterten und mit einigen Gasblasen durchsetzten Kaseinzylinders. Gleichzeitig war auch mehr oder weniger Molke ausgeschieden worden. Die Höhe der über dem Kaseinzylinder befindlichen Molkenschicht wurde durch Anlegen eines Maßstabes außen an das Röhrchen in mm gemessen. Sie schwankte zwischen 2 und 12 mm. Bei einigen Stämmen setzte die Dicklegung der Milch erst langsam ein, manchmal erst nach 3—5 Tagen, in anderen Fällen sogar erst nach 7 Tagen. Bei Stamm 109, 111, 118, 138, 139, 143, 144, 146, 152, 162 und 163 war die Lackmusmilch schleimig-dicklich und stark fadenziehend. Fast immer trat eine mehr oder weniger weitgehende Reduktion des Lackmusfarbstoffes ein, stets im unteren Röhrchenteil beginnend. Eine Alkalibildung in den Lackmusmilchkulturen konnte im Laufe des 14 tägigen Wachstums nur bei Stamm 101 wahrgenommen werden.

Zu einem späteren Zeitpunkt unter gleichen Temperaturbedingungen vorgenommene Wiederholungsversuche haben gezeigt, daß manche Colistämme dazu neigen, in ihrem Verhalten zur Lackmusmilch zu variieren. So legten Stamm 24, 57, 60, 77, 104, 131 und 148 kurz nach ihrer Isolierung und Reinzüchtung die Lackmusmilch innerhalb von 48 Std. dick, und zwar unter Bildung von Säure und Gas sowie unter Abscheidung von Molke. Bei den 1 Jahr später durchgeführten Wiederholungsversuchen begann bei diesen Stämmen die Säuerung und Dicklegung der Lackmusmilch erst sehr viel später, bei Stamm 24, 60, 77, 104 und 148 setzte sie erst nach 3 Tagen langsam ein, bei Stamm 57 und 131 sogar erst nach 7 Tagen. Umgekehrt verhielten sich Stamm 47 und 111, welche bei ihrer ersten Prüfung in Lackmusmilch, diesen Nährboden erst nach 5 Tagen dicklegten. Bei den Wiederholungsversuchen trat eine Säuerung und Dicklegung der Milch schon innerhalb von 48 Std. ein. Die von diesen Stämmen im Verlauf der einjährigen Fortzüchtung auf Bouillonschrägagar erworbene Fähigkeit der schnelleren Milchsäuerung und Dicklegung war auch nach einem weiteren halben Jahr nicht verlorengegangen. Die Ursache des Variierens mancher Colistämme beim Wachstum in Lackmusmilch ist vermutlich in einer zeitlich verschieden stark ausgeprägten Aktivität der von den Colibakterien gebildeten laktosespaltenden Enzyme Laktase und Galaktase zu suchen.

e) Untersuchung des hämolytischen Vermögens.

Zur Prüfung der hämolytischen Eigenschaften wurden von allen Stämmen Ausstriche auf Hammelblutagar gemacht und die Platten 48 Std. bei 37° bebrütet; in Zweifelsfällen wurden die Platten dann noch einige Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Kurz vor dem Gießen der Platten wurde das defibrinierte Hammelblut im Wasserbade gelinde angewärmt, mit dem auf etwa 65° heruntergekühlten Bouillonagar zusammengebracht und das Gemisch schnell in die bereitstehenden Petrischalen gegeben (auf 100 ccm Bouillonagar kamen 5 ccm Hammelblut). Bei den Coli-Aerogenes-Stämmen mit positiver Hämolyse entstand um die Wachstumszone herum ein heller, durchsichtiger Hof. Die Auswertung der Hammelblutagarplatten geschah in der von Schmidt (152) angegebenen Weise.

Ein positiver Hämolysebefund ließ zunächst vermuten, daß bei den Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe gewisse Beziehungen beständen zwischen dem Abbauvermögen für den roten Blutfarbstoff und der Virulenz. Diese Vermutung trifft jedoch auf Grund der vorliegenden Untersuchungen sowie der Arbeiten von Schmidt (152) und Buchgraber und Hilkó (9) nicht zu.

Von den geprüften 164 Coli-Aerogenes-Stämmen hämolysierten insgesamt 83 Stämme das Hammelblut, 81 dagegen nicht. Hämolysierende und nicht hämolysierende Stämme konnten in nahezu allen 12 Untergruppen gefunden werden.

Eine Bestätigung für die Richtigkeit der Annahme, daß die Hämolyseprobe keine Schlüsse auf die Virulenz der Coli-Aerogenes-Bakterien zuläßt, brachten Hill, Seidman, Stadnichenko und Ellis (69). Unter 100% der von ihnen aus Bakterieninfektionen des menschlichen Urogenitalapparats isolierten Colistämme einerseits und Aerogenesstämme andererseits befanden sich 60% hämolysierende Coli- und 74% hämolysierende Aerogenesstämme.

Eine Konstanz des Hämolysierungsvermögens ist bisher noch nicht mit Sicherheit erwiesen worden. Klingenstein (96) vertrat den Standpunkt, daß das Abbauvermögen für das Hämoglobin ein ziemlich konstantes Merkmal abgibt. Schmidt (152) dagegen gelangte zu der Überzeugung, daß das Hämolysierungsvermögen der hämolysierenden Colibakterien bei der Weiterzüchtung der Stämme auf den üblichen Laboratoriumsnährböden eine Abschwächung erfährt oder auch gänzlich verlorengehen kann. Nach Buchgraber und Hilkó (9) sollen Saccharose nicht spaltende Colistämme im allgemeinen den roten Blutfarbstoff nicht abbauen, was aber in der vorliegenden Arbeit für die aus Rohmilch isolierten Coli-Aereognes-Bakterien nicht zutraf.

Auf die Anwendung einer serologischen Untersuchungsmethode, der Agglutininreaktion, wurde verzichtet.

f) Die Verwertung von Harnsäure als Stickstoffquelle.

Bei seinen Untersuchungen über die Verwertbarkeit verschiedener einfacher, chemisch genau definierbarer Stickstoffverbindungen durch die Mikroorganismen der Coli-Aerogenes-Gruppe verwendete Koser (98) mit Erfolg eine Nährlösung, welche Harnsäure als alleinige Stickstoffquelle enthielt.

Die Aerogenesbakterien und ferner manche Intermediärformen der Coli-Aerogenes-Gruppe sind imstande, in diesem Harnsäuremedium unter Trübung der Flüssigkeit zu gedeihen, nicht aber die typischen Fäkalcolibakterien.

Von den untersuchten 164 Stämmen waren 102 Coli-Aerogenes-Stämme nicht dazu befähigt, Harnsäure als einzige Stickstoffquelle auszunutzen. Die restlichen 62 Stämme riefen beim Wachstum bei 30° im Harnsäuremedium eine Trübung der Kulturflüssigkeit hervor und gaben nach 14 tägiger Bebrütungszeit saure p_H-Werte bis zu einem p_H-Wert von 4,5.

g) Die Verwertung organischer Säuren (Zitronensäure) als alleinige Kohlenstoffquelle.

Wie Koser (99/102) gezeigt hat, vermag das Bact. aerogenes die Natrium-, Kalium- und Ammoniumsalze der Zitronensäure zu spalten und diese in einer synthetischen anorganischen Nährlösung als alleinige Kohlenstoffquelle auszunutzen. Diese Fähigkeit kommt hingegen dem aus dem Darm des Menschen und der höheren Tiere isolierten Bact. coli nicht zu. Zwischen diesen beiden Möglichkeiten gibt es alle erdenklichen Übergangsformen, die sich bezüglich ihrer Zitratausnutzung verschieden verhalten.

Unter den geprüften 164 Coli-Aerogenes-Stämmen befanden sich 81 Stämme, welche Zitrat als alleinige Kohlenstoffquelle abbauten und ferner 83 Stämme, die hierzu nicht in der Lage waren. Die Aerogenesbakterien sowie die aerogenesähnlichen Coli-Aerogenes-Intermediärformen verwerteten fast ausnahmslos Zitrat, wobei sich die Kosersche Zitratlösung mehr oder weniger stark trübte und nach 14 tägiger Bebrütung der Kulturen bei 30° alkalische Reaktionen bis zu einem p_H-Wert von 8,4 gemessen wurden. Die Colibakterien dagegen griffen das Natriumzitrat nur in wenigen Ausnahmefällen an.

Wiederholungsversuche, die mit einem Teil der Stämme vorgenommen wurden, haben erkennen lassen, daß die Zitratprobe gegenüber der häufig variierenden Voges-Proskauer-Reaktion eine weitgehende Konstanz aufweist. Aus Tab. 1 und 2 geht hervor, daß zwischen der Harnsäure- und Zitratprobe keine strikte Übereinstimmung herrscht, wie früher von Koser angenommen wurde. Im Vergleich zu den harnsäurepositiven Stämmen überwogen in vorliegender Arbeit die zitratpositiven.

Die späteren Versuche Kosers (103), andere organische Säuren zur Differenzierung der Coli-Aerogenes-Gruppe heranzuziehen, brachten kein befriedigendes Ergebnis.

Die neuerdings von Leifson (113) vorgeschlagene Malonatprobe soll nach Ansicht dieses Autors mit der Zitratprobe genau übereinstimmen. Sie konnte hier nicht mehr berücksichtigt werden, da sie erst später bekannt wurde.

h) Das Vergären und Nichtvergären von Kohlehydraten und kohlehydratähnlichen Substanzen.

Bergey (3) richtet bei der Unterteilung der Coligruppe (Genus Escherichia) und der Aerogenesgruppe (Genus Aerobacter) sein Hauptaugenmerk auf das unterschiedliche Verhalten der verschiedenen Spezies gegenüber einer Reihe von Kohlehydraten und kohlehydratähnlichen Verbindungen. Vor allem spielt das Vergären oder Nichtvergären von Saccharose, ferner von Salicin und Dulcit dabei eine ausschlaggebende Rolle.

Bei der Zersetzung von Kohlehydraten und kohlehydratähnlichen Stoffen ist grundsätzlich zu unterscheiden zwischen einer richtigen Vergärung und einer bloßen Säuerung. Beim Vergären von Zuckern, Glukosiden und höheren Alkoholen findet neben der Säurebildung immer auch eine Gasbildung statt.

Von allen 164 isolierten Coli-Aerogenes-Stämmen wurden Fermentierungsversuche durchgeführt. Folgende Substanzen kamen zur Anwendung:

an Mono-Hexosen:	Glukose	(Aldose)
	Galaktose	(Aldose)
an Mono-Pentosen:	Arabinose	(Aldopentose)
an Di-Hexosen:	Cellobiose	(2 Mono-Hexosen)
	Saccharose	(Laevulose + Glukose)
	Laktose	(Glukose + Galaktose)
an Tri-Hexosen:	Raffinose	(Fructose + Galaktose + Glukose)
an Poly-Hexosen:	Stärke	(Glukose)
	Dextrin	(Glukose)
	Inulin	(Laevulose)
an Glukosiden:	Salicin	(Glukose + Saligenin [=Phenol-Alkohol])
an mehrwertigen Alkoholen:	Glyzerin	(3-wertiger Alkohol)
	Mannit	(6-wertiger Alkohol)
	Dulcit	(6-wertiger Alkohol)
	Inosit	(6-wertiger hydroaromatischer Alkohol)

Als Kulturgefäße dienten bei den Vergärungsversuchen gewöhnliche Reagenzröhrchen, in denen kleine Durhamsche Einsatzröhrchen (27) und zwar umgekehrt mit der Öffnung nach unten gerichtet, versenkt wurden. Beschickt wurden die Kulturgefäße mit 6 ccm Liebigscher Nährbouillon, die jeweils einen Zusatz von 0,5% des betreffenden Kohlehydrats bzw. des höheren Alkohols erhalten hatte. Die Sterilisation erfolgte im Dampftopf. Zur Beimpfung wurde mit der Impfnadel ein wenig Bakterienmaterial aus einer 1—3 Tage alten Bouillon-Schrägagarkultur in die Röhrchen übertragen und die Röhrchen bei 37° bebrütet. Eine weitere Probe mit Mannit-

bouillon wurde bei 45° bebrütet, da dies der Eijkman- (31) und Bulír-schen (7) Probe entspricht.

Die in Anwesenheit der betreffenden Kohlenstoffverbindungen von den einzelnen Stämmen gebildete Gasmenge sammelte sich zum großen Teile in der Kuppe der Einsatzröhrchen an. In den weitaus meisten Fällen, in denen Gasbildung auftrat, war diese bereits nach 24stünd. Bebrütung bei 37° so kräftig, daß die Versuche abgebrochen werden konnten. Nur die Kulturröhrchen, die überhaupt keine oder nur eine geringe Gasbildung in den Einsatzröhrchen aufwiesen, wurden zur Weiterbeobachtung noch weitere 2 Tage im Brutschrank belassen. Alle Proben, bei denen nach 3 tägiger Bebrütung bei 37° nur eine schwache oder gar keine Gasbildung aufgetreten war, wurden wiederholt.

Einer Nachprüfung unterzogen wurden ebenfalls alle positiv verlaufenen Vergärungsversuche mit Saccharose, Salicin und Dulcit sowie die mit Mannitbouillon bei 45° angesetzten Eijkman-Bulírschen Proben auf Warmblütercoli.

Bei der Auswertung der Gärungsversuche wurde die Säure- und Gasbildung wie folgt bewertet: + = positive Gas- und Säurebildung nach 48 Std. bei 37°, × = Spur Gas und positive Säurebildung; — = weder Gas- noch Säurebildung (vgl. Tab. 1 und 2). Die Prüfung der Säurebildung erfolgte durch Zugabe einiger Tropfen Lackmuslösung. In 3 Ausnahmefällen konnte eine schwache Alkalisierung des Nährbodens festgestellt werden; bei der Dulcitvergärung durch Stamm 27 und 89 und ferner bei der Salicinvergärung durch Stamm 85.

Erwähnt sei, daß von allen in der vorliegenden Arbeit verwendeten Kulturflüssigkeiten und festen Nährböden stets unbeimpfte, aber in gleicher Weise wie die beimpften Kulturen behandelte Kontrollproben zum Vergleich mit herangezogen wurden.

Eingehend wurde die Zusammensetzung des Gärungsgases geprüft und das Verhältnis an gebildetem Kohlendioxyd und Wasserstoff beim Wachstum der Coli-Aerogenes-Bakterien in Dunbar-Gärröhrchen (26) mit 1 proz. Glukosebouillon bei 37°, Galle-Pepton-Gentianaviolett-Laktoselösung nach Keßler und Swenarton (88) bei 37° und Magermilch bei 30° ermittelt.

Nach 24stünd. Bebrütung der Dunbar-Röhrchenkulturen und erfolgtem Temperaturausgleich wurde die Höhe der gebildeten Gassäule gemessen (2 cm der abgelesenen Gasmenge entsprachen genau 1 ccm Gas) und der Gasquotient ($CO_2 : H_2$; $H_2 = 1$) nach Adsorption des Kohlendioxyds durch 20proz. Kalilauge in der von Demeter (21) angegebenen Weise berechnet.

i) Die Gasbildung in Magermilch im Gärröhrchen bei 30°.

Die im voraufgehenden Abschnitt beschriebene Gärprobe mit Magermilch bei 30° im Dunbar-Gärröhrchen gibt die Möglichkeit einer bequemen Unterscheidung der Colibakterien, die in diesem Nährmedium nur wenig Gas bilden, von den typischen Aerogenesbakterien und sehr vielen Coli-Aerogenes-Intermediärformen, welche in Magermilch unter diesen Temperaturbedingungen im Vergleich zu Colibakterien sehr viel Gas entstehen lassen [vgl. auch das Kapitel über die Ruchhoft-, Kallas-, Chinn- und Coulterschen (147) Reaktionskombinationen].

k) Die Ermittlung der beim Wachstum in Reichenbachscher Lösung gebildeten Säuremenge.

Die Bestimmung der von den Coli-Aerogenes-Bakterien beim Wachstum in der zuckerhaltigen Reichenbachschen Lösung gebildeten Säure geschah nach 5 tägiger Herzüchtung der Stämme bei 37°.

1. auf elektrometrischem Wege,
2. durch Titration von 10 ccm der Bakterienkultur mit $\frac{n}{10}$-Natronlauge unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator.

Die Reichenbachsche Lösung war nach den Angaben von Quantz (140) bereitet worden, unterschied sich aber von der von Quantz verwendeten Lösung durch das Fehlen des Azolithmins und ferner dadurch, daß die Laktose durch Glukose ersetzt worden war. Der p_H-Wert dieses Nährbodens betrug 6,96.

Die bei der Titration erhaltenen Werte wurden auf Milchsäureprozente umgerechnet.

Die meisten Colistämme bildeten in der Reichenbachschen Lösung im Laufe von 5 Tagen bei 37° durchschnittlich 2% Milchsäure und gaben p_H-Werte von ungefähr 5,4. In den Kulturen mit Aerogenesbakterien sowie einigen Coli-Aerogenes-Intermediärformen konnten eine geringere Milchsäurebildung festgestellt und höhere p_H-Werte gemessen werden.

Irgendwelche typische und sichere Anhaltspunkte für die Unterscheidung der verschiedenen Colivertreter haben die Kulturversuche in der Reichenbachschen Lösung nicht ergeben, überhaupt waren die Werte, wie Wiederholungsversuche an Hand von 20 Stämmen aus den verschiedenen Coliuntergruppen gezeigt haben, sehr inkonstant, so daß es zweckmäßiger wäre, gewöhnliche Traubenzuckerbouillon zu verwenden, die den Coli-Aerogenes-Bakterien ein weit üppigeres Wachstum ermöglicht als die Reichenbachsche Lösung. Um gute relative Vergleichswerte zu bekommen, müßte man dann dafür sorgen, daß alle Versuche mit der gleichen Vorratslösung angesetzt werden.

l) Wachstum auf sterilen Kartoffelscheiben.

Beim Wachstum auf sterilen Kartoffelscheiben zeigten sich mancherlei Unterschiede. Manche Stämme bildeten in der feuchten Kammer im Laufe von 14 Tagen bei 30° üppige, gelblich-weißgraue bis gelblich-bräunliche, feuchtglänzende Auflagerungen. Andere Stämme dagegen wuchsen auf den Kartoffelscheiben nur als zarter, weißer oder weißgrauer Belag. Häufig fand dabei auch eine mehr oder weniger weitgehende, schmutziggraue, schmutzigbraune oder braunschwarze Verfärbung der Kartoffelscheiben statt. Der Geruch der Kartoffelkulturen war zumeist ein undefinierbarer, penetrant muffiger (Spülwassergeruch). Bei den nur spärlich wachsenden Stämmen war der Geruch dagegen schwach säuerlich.

V. Untersuchung der biochemischen Eigenschaften der Coli-Aerogenes-Bakterien.

a) Die Probe auf Indol.

Kitasato (89) erkannte schon frühzeitig die Fähigkeit der Darmcolibakterien, in eiweißhaltigen Nährmedien Indol zu bilden (zum Unterschied von den Typhusbakterien). Seit dem Auffinden indolnegativer Coli-

formen durch Ehrenfest (29) und Lembke (114 u. 116) leistet dieses sehr zuverlässige Hilfsmittel gute Dienste bei der Klassifizierung der sehr zahlreichen Coli-Aerogenes-Vertreter.

Der Indolnachweis erfolgte in Trypsinbouillonkulturen nach Gersbach (42), die 48 Std. bei 37° bebrütet wurden.

Von den zahlreichen in der Laboratoriumspraxis benutzten Verfahren zum Nachweis des Indols [einschließlich der Proben nach Koser und Galt (104), Goré (44) und Malone und Goré (128)] eigneten sich am besten die beiden Methoden von Kovács (106/107) und Gottsacker (46).

Kovács' Angabe, daß der Indolnachweis mit Amylalkohol auch in den gewöhnlichen Bouillonkulturen gelingt, während das Ehrlich-Böhmesche Reagens (6) hier häufig versagt, konnte voll und ganz bestätigt werden. Die von Gottsacker modifizierte Natriumnitroprussid-Probe zeichnet sich vor allen anderen Indolreaktionen durch ihre große Spezifität aus. Während nämlich das bei der Indolprobe nach Kovács verwendete p.-Dimethylaminobenzaldehyd außer auf Indol auch noch auf α-Methylindol einwirkt, reagiert Natriumnitroprussid nur mit Indol und nicht mit α-Methylindol.

Die Stärke der Indolbildung ist bei den Indolbildnern gleichsam eine Funktion der Wachstumsintensität und ist im wesentlichen von drei Faktoren abhängig:

1. von der p_H-Zahl des Nährbodens (die Reaktion des N. B. muß eine ganz schwach alkalische sein),
2. von einer optimalen Wachstumstemperatur und
3. von der Anwesenheit von Sauerstoff.

Ferner gelingt der Indolnachweis in eiweißhaltigen Nährböden nur dann, wenn die Eiweißkomponenten des Nährbodens vorher durch einen enzymatischen Spaltungsprozeß teilweise in Tryptophan übergeführt worden sind (Trypsinbouillon). Nur aus diesem Spaltungsprodukt Tryptophan vermag das Bact. coli Indol zu bilden.

Über ein tryptisches Enzym verfügt das Bact. coli selbst nicht, um den Spaltungsprozeß der Eiweißkörper zum Tryptophan hin in Lösungen, die frei von Trypsin oder Peptonen sind, zu bewerkstelligen. Aus diesem Grunde gelingt der Indolnachweis, wie in vorliegender Arbeit gezeigt werden konnte, auch nicht in Milchkulturen, da hier die Voraussetzungen für die Indolbildung nicht erfüllt sind.

Von 40 indolpositiven Colistämmen aus verschiedenen Coliuntergruppen wurden Magermilchkulturen angelegt und nach 2-, 4- und 12 tägigem Bebrüten bei 37° auf Indol geprüft. In allen Fällen verlief die Indolprobe stets negativ.

Ebenfalls negativ verlief häufig die Indolreaktion in Trypsinbouillon, wenn Kohlehydrate anwesend waren, worauf schon de Graaff (47) und A. Fischer (36) hingewiesen haben. Es war interessant, diese Erscheinung des negativen Ausfalls der Indolprobe bei Anwesenheit von Kohlehydraten und mehrwertigen Alkoholen an Hand von 7 üppig wachsenden Indolbildnern näher zu verfolgen. Zum ersten kam es darauf an, festzustellen, ob die verschiedenen Kohlehydrate und kohlehydratähnlichen Stoffe eine gleich starke Hemmungswirkung auf die Indolbildung ausüben würden. Geprüft wurde in Trypsinbouillon, welche jedesmal einen 0,5 proz. Zusatz einer der folgenden Kohlehydratquellen enthielt: Glukose, Galaktose, Mannose, Laevulose, Salicin, Saccharose, Laktose, Raffinose, Arabinose, Cellobiose, Dextrin, Stärke, Inulin, Inosit oder Mannit.

Es zeigte sich bei diesen Versuchen, daß stets nur dann Indol nachgewiesen werden konnte, wenn das betreffende Kohlehydrat oder die kohlehydratähnliche Substanz von den eingeimpften Bakterien nicht vergoren werden konnte. Bei dem Saccharose nicht spaltenden Fäkalcoli Bact. coli

commune (Escherich) fiel die Indolprobe daher stets negativ aus in Bouillon mit den vergärbaren Substanzen: Glukose, Galaktose, Mannose, Laevulose, Laktose, Arabinose, Salicin und Mannit, dagegen stets positiv bei Anwesenheit der unvergärbaren Substanzen: Saccharose, Raffinose, Dextrin, Stärke, Inulin, Inosit und Cellobiose. Ganz analog war das Versuchsergebnis bei dem saccharosepositiven Bact. coli communior (Durham): indolnegative Reaktion in den vergärbaren Kulturflüssigkeiten mit Glukose, Galaktose, Mannose, Laevulose, Saccharose, Laktose, Arabinose, Raffinose, Salicin und Mannit; positive Indolreaktion in den unvergärbaren Medien mit Dextrin, Stärke, Inulin, Cellobiose und Inosit.

Untersucht wurde ferner die Frage, inwieweit der Ausfall der Indolprobe von der Konzentration des zur tryptophanhaltigen Bouillon hinzugesetzten Kohlehydrats abhängig ist, bei welcher Zuckermenge die Indolreaktion noch positiv und bei welcher sie bereits negativ verläuft. Peptonbouillon mit Zusätzen von 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,3% 0,5% und 1,0% Glukose diente als Nährlösung. Als Kulturgefäße wurden Reagenzröhrchen mit Durhamschen Einsatzröhrchen (vgl. Kap. Zuckervergärung) verwendet, um gleichzeitig auch Anhaltspunkte über die relative Menge des gebildeten Gärungsgases zu erhalten. Nach 40 stünd. Bebrütung der Kulturen bei 37° wurde der Versuch abgebrochen und die Höhe der in den Durhamschen Einsatzröhrchen aufgefangenen Gasmenge in mm gemessen und dann die Prüfung auf Indol nach Kovács sowie nach Gottsacker vorgenommen.

Der Versuch hat deutlich gezeigt, daß mit zunehmender Gas- und Säurebildung gleichzeitig auch eine Hemmung der Indolbildung eintritt. Bei Anwesenheit von 0,2% Glukose im Nährmedium konnten nur noch Spuren von Indol nachgewiesen werden. Bei 0,3% Glukose verlief die Indolreaktion bereits negativ (vgl. die folgende Tabelle).

	Glukosezusatz						
	0,01%	0,05%	0,10%	0,20%	0,30%	0,50%	1,00%
Gasmenge im Durhamschen Einsatzröhrchen in Millimetern n. 40 Std. bei 37°	0	2	5	11	15	14	14
Indolreaktion nach Kovács n. 48 Std. bei 37°	+++	+++	+++	sehr wenig	—	—	—

Unter den geprüften 164 Coli-Aerogenes-Stämmen befanden sich 90 indolpositive und 74 indolnegative Stämme (vgl. Tab. 1 und 2). Das Versuchsergebnis der Indolprobe nach Kovács stimmt gut mit dem der Probe nach Gottsacker überein. Nur ein einziges Mal, bei Stamm 117, ist eine Unregelmäßigkeit bezüglich des Ausfalls der Indolprobe beobachtet worden. Nach Kovács fiel die Indolprobe bei Stamm 117 auch in den Wiederholungsversuchen schwach positiv, nach Gottsacker mit Natriumnitroprussid dagegen negativ aus.

Indolpositive und indolnegative Stämme konnten in allen der auf Grund der Saccharose-, Salicin- und Dulcitvergärung aufgestellten Coliuntergruppen gefunden werden, so daß es für unangebracht erscheint, künftighin noch eine besondere Colispezies, genannt Bact. coli anindolicum

Lembke (114, 115), aufrechtzuerhalten, wie Bergey (3) es getan hat. Die Bezeichnung Bact. coli anindolicum ist somit nur als Sammelname für alle indolnegativen Colirassen zu verwerten.

b) Die Probe auf Phenol.

Zur Prüfung des Phenolbildungsvermögens wurden die zu untersuchenden Bakterienstämme in der nach Rhein (142) bereiteten Kulturflüssigkeit gezüchtet. Der Phenolnachweis erfolgte unter Verwendung von p.-Amidophenolhydrochlorid und Natriumhypochlorit nach der Methode von Benda in der Frieberschen (39) Ausführung.

Von den 164 Stämmen verhielten sich 50 Stämme phenolpositiv und 114 phenolnegativ. Auf Grund der ungefähr gleichmäßigen Verteilung der phenolpositiven und phenolnegativen Stämme auf die einzelnen Coliuntergruppen (vgl. Tab. 2) kann der Prüfung auf Phenol kein besonderer differentialdiagnostischer Wert beigemessen werden.

Erwähnt sei, daß die Phenolbildung ebenso wie die Indolbildung nur dann vor sich geht, wenn Zucker in dem betreffenden Nährsubstrat nicht zugegen sind.

c) Die Nitratreduktion.

Bekanntlich haben die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe ein starkes Sauerstoffbedürfnis. Liegen anaerobe Verhältnisse vor, so ermöglichen speziell die Kohlehydrate und kohlehydratähnlichen Stoffe, in geringem Maße auch Salpeter, den Coli-Aerogenes-Bakterien ein fakultativ anaerobes Wachstum. Auf die Bedeutung des Zuckers für das anaerobe Coliwachstum hat bereits Smith (157) im Jahre 1895 hingewiesen und die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe als fakultativ anaerobe Organismen bezeichnet.

Bezüglich der Verwertung von Natron- oder Kalisalpeter als Sauerstoffquelle ist aus der Literatur zu entnehmen, daß nicht alle Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe imstande sind, Nitrat zu Nitrit zu reduzieren. So fehlt dieses Vermögen beispielsweise bei den von Bergey (3) erwähnten Colirassen: Escherichia alba und Escherichia pseudodysenteriae.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Nitritprobe bei sämtlichen 164 Coli-Aerogenes-Stämmen nach 2tägiger Züchtung in 0,5 proz. Kaliumnitratbouillon bei 37° durchgeführt. Als Reagens diente α-Naphthylaminsalzlösung und Sulfanilsäure. Das Ergebnis dieser Probe war immer ein positives. Sämtliche Stämme reduzierten Nitrat zu Nitrit.

In diesem Zusammenhang soll nicht unerwähnt bleiben, daß auch hier bei der Nitratreduktion bei gleichzeitiger Anwesenheit von Nitrat und vergärbaren Zuckern bzw. kohlehydratähnlichen Stoffen eine Gasbildung ausbleibt. Der Grund für das Fehlen der Gasbildung ist in diesem Falle wohl darin zu erblicken, daß schon die geringsten aus dem Nitrat entstehenden Nitritmengen eine so stark giftige Wirkung auf die zuckerspaltenden Enzyme ausüben, daß es überhaupt gar nicht erst zu einer Vergärung der Kohlehydrate und kohlehydratähnlichen Substanzen kommt. In der Käsereipraxis verwertet man diese Erkenntnis mit Erfolg bei der Bekämpfung der durch Bakterien dieser Gruppe verursachten Käseblähung und setzt heute bei der Käsebereitung geringe Mengen Kalisalpeter (40—50 g auf 100 l Milch) zur Käsereimilch hinzu.

d) Die Methylrotprobe.

Die Methylrotprobe nach Clark und Lubs (15, 16) dient zur Unterscheidung der verschieden stark säuernden Stämme.

Im Gegensatz zu den typischen Aerogenesbakterien bilden die typischen Fäkalcolibakterien in zuckerhaltigen Nährlösungen mehr Säure, so daß die Methylrotprobe in den mehrtägigen Glukosebouillonkulturen mit Colibakterien nach Hinzufügen von 2—3 Tropfen der von Clark und Lubs (15) vorgeschlagenen Indikatorlösung positiv ausfällt, d. h. Rotfärbung eintritt.

Die Vorzüchtung der Coli-Aerogenes-Stämme geschah in Röhrchen mit gewöhnlicher Traubenzuckerbouillon und die Vornahme der Methylrotprobe nach einer 5 tägigen Bebrütung der Kulturen bei 37°. Acht methylrotnegative Stämme aus Gruppe 10, 11 und 12 (vgl. Tab. 1 und 2) standen 156 methylrotpositiven Stämmen gegenüber. Das mengenmäßig geringere Vorliegen der methylrotnegativen Formen ist darauf zurückzuführen, daß bei der Isolierung der Stämme hauptsächlich nur die nicht schleimbildenden Vertreter der Coli-Aerogenes-Gruppe Berücksichtigung gefunden haben und lediglich nur zu Vergleichszwecken eine verschwindend kleine Anzahl von typischen Aerogenes-Bakterien mit zu den Untersuchungen herangezogen worden ist.

Eine allzu große differentialdiagnostische Bedeutung kommt der Methylrotprobe nicht zu, da sie infolge des häufigen Variierens des Säurebildungsvermögens recht oft inkonstante Werte liefert. Der Hinweis Singers (156), daß manche Aerogenesbakterien zu einer starken Säurebildung befähigt sind, während wiederum manche Colistämme nur sehr wenig Säure entwickeln, setzt ebenfalls den Wert der Methylrotprobe herab. Auch Demeter und Sauer (21) gewannen bei ihren Coli-Aerogenes-Untersuchungen die gleiche Überzeugung, daß die Methylrotprobe keineswegs eine exakte Differenzierungsmethode darstellt.

e) Die Voges-Proskauer-Reaktion.

Auf die Voges-Proskauer-Reaktion muß an dieser Stelle ebenfalls näher eingegangen werden, da Bergey (3) diese Probe als Hauptunterscheidungsmerkmal zur Abgrenzung seines „Genus Escherichia“ vom „Genus Aerobacter“ benutzt. In den letzten Jahren ist die Voges-Proskauer-Reaktion immer mehr in Anwendung gekommen, besonders auf Grund der Veröffentlichungen einer Reihe englischer und amerikanischer Forscher wie Durham (28), MacConkey (125), Harden und Mitarbeiter (51/54), Levine (117, 118). Johnson und Levine (85), Koser (100 u. 102) u. a.

In Verbindung mit der Indolprobe, Methylrotprobe und der Koserschen Zitratprobe stellt sie ein wichtiges differentialdiagnostisches Hilfsmittel dar und läßt bis zu einem gewissen Grade Schlüsse auf die Art der Infektion zu. Die Untersuchungsergebnisse von Clemesha (17), MacConkey (124, 125), Koser (100 u. 102), Levine (118), Johnson und Levine (85) sowie von Ruchhoft, Kallas, Chinn und Coulter (147) berechtigen uns zu der Annahme, das Bact. lactis aerogenes als typischen Bewohner des Erdbodens und das Bact. coli als einen Mikroorganismus des Darmtraktus zu betrachten. Voges-Proskauer-positive Stämme sind von den genannten Autoren nur verhältnismäßig selten in Faezesproben von Mensch und Tier angetroffen worden.

Das Auftreten der eosinroten Färbung nach Hinzufügen von Kalilauge zu Traubenzuckerbouillonkulturen wurde zuerst 1899 von Voges und Proskauer (164) beobachtet.

Der sehr komplizierte Chemismus der Voges-Proskauer-Reaktion ist uns nur im ersten Teile seines Verlaufs durch die Arbeiten von Harden (51, 52), Harden und Walpole (53), Harden und Norris (54) und Horowitz-Wlassowa und Rodinowa (74) bekannt geworden. Nach Hardens Feststellungen (51) bilden die Mikroorganismen der Coli-Aerogenes-Gruppe 2,3-Butylenglykol (CH_3 - CHOH - CHOH - CH_3), welches durch die Wachstumstätigkeit der Aerogenesbakterien sowie einiger Coli-Aerogenes-Intermediärformen weiterhin zum Acetylmethylcarbinol (CH_3 - CHOH - CO - CH_3) oxydiert wird. Das typische Bact. coli vermag diesen Oxydationsprozeß nicht zu bewerkstelligen. Nach Versetzen der Aerogenes-Glukosebouillon-Kulturen mit Natron- oder Kalilauge entsteht in Anwesenheit von Luftsauerstoff langsam aus dem gebildeten Acetylmethylcarbinol Diacetyl (CH_3 - CO - CO - CH_3). Diacetyl ist aber bei alkalischer Reaktion unbeständig und geht über in Chinon. Die bei der Einwirkung der starken Lauge auf die Amidgruppen des Pepton sich abspielenden Vorgänge, die schließlich zur Ausbildung des roten Farbstoffs (Chinone) führen, sind zum Teil noch nicht restlos geklärt.

Acetylmethylcarbinol wird im weiteren Stoffwechselverlauf der Aerogenesbakterien wieder zerstört [vgl. Peine (138) und Williams und Morrow (169)]. Deshalb wurden in der vorliegenden Arbeit zur Ausführung der Voges-Proskauer-Reaktion Glukose-Bouillonkulturen verwendet, die nicht länger als 5 Tage bei 30° bebrütet waren. Als Nachweisreaktionen dienten die Uhrschälchenmethode nach Bunker, Tucker und Green (11) sowie die Probe nach Werkman (167)[1]).

Unter den zur Prüfung herangezogenen 164 Coli-Aerogenes-Stämmen befanden sich 31 Stämme, die beim Wachstum in Glukosebouillon Acetylmethylcarbinol gebildet haben. Bei weiteren 26 Stämmen ließ sich dieses Stoffwechselprodukt nur in 5 Tage bei 30° bebrüteten Petrischalenkulturen mit Magermilch und nicht in Glukosebouillon-Kulturen nachweisen. Es handelte sich bei den zuletzt genannten Stämmen um Coli-Aerogenes-Intermediärformen aus der Aerogenessektion und zwar ausschließlich um Stämme aus der Coli-Aerogenes-Untergruppe 10.

Auf Grund vergleichender Versuche an Hand sämtlicher 164 Stämme ist hervorzuheben, daß der Acetylmethylcarbinol-Nachweis in den Kulturen mit Magermilch zumeist wesentlich rascher und deutlicher verläuft als in Kulturen mit Glukosebouillon. Es erscheint daher im Hinblick auf die Systematik der aus Milch und Milchprodukten isolierten Coli-Aerogenes-Stämme zweckmäßig, die Probe auf Acetylmethylcarbinol außer wie bisher mit Glukosebouillon-Kulturen auch noch mit Magermilchkulturen (in flacher Schicht) vorzunehmen. Die Ausführung der Probe ist ähnlich wie bei der Methode nach Bunker, Tucker und Green (11). Mittels eines Spatels wird etwa 1 g der koagulierten Milch im Uhrschälchen mit der annähernd gleichen Menge 45proz. Kalilauge vermischt und 2 Std. an der Luft stehen gelassen. In den meisten Fällen tritt bei positiver Reaktion schon im Laufe von 10 Min. die Rotfärbung auf.

2,3-Butylenglykol und Acetylmethylcarbinol können, wie Harden und Norris (54) herausgefunden haben, auch in Peptonbouillon-Kulturen mit Fruktose, Mannose, Galaktose, Arabinose, Isodulcit, Mannit oder Adonit von den Aerogenes- und aerogenesähnlichen Bakterien gebildet werden.

---

[1]) Die neueren Reaktionen zum Acetylmethylcarbinolnachweis von Bredford (8), Leifson (112), Dorner und Hellinger (24) und O'Meara (137) konnten nicht berücksichtigt werden, da sie erst nach Abschluß der Versuche bekannt wurden. Nach den Feststellungen von Gorrieri (45) und Demeter und Sauer (21) soll die Probe nach Leifson eine etwas größere Empfindlichkeit besitzen als die Methode nach Bunker, Tucker und Green und viele fragliche Ergebnisse liefern.

VI. Die Reaktionskombinationen nach Ruchhoft, Kallas, Chinn und Coulter, gebildet aus den Ergebnissen aus Indolprobe, Methylrotprobe, Voges-Proskauer-Reaktion und Zitratprobe.

Bei der systematischen Einteilung der Coli-Aerogenes-Bakterien können zwei Wege beschritten werden. Der erste Weg ist hier bereits aufgezeichnet worden. Bei ihm wird der Hauptwert auf das Vergären oder Nichtvergären von Kohlehydraten und kohlehydratähnlichen Substanzen gelegt, ferner auf das kulturelle Verhalten und die Ermittlung der Menge und die Zusammensetzung der in Glukosebouillon gebildeten Gärungsgase. Es ist zugleich der exaktere Weg und gestattet die bisher weitgehendste Differenzierung der Coli-Aerogenes-Gruppe.

Daneben ist es heute andererseits möglich, mit Hilfe von nur 4 leicht ausführbaren Proben und Reaktionen, wie mittels der Indolprobe, Methylrotprobe, Voges-Proskauerschen Reaktion und Zitratprobe schon innerhalb relativ kurzer Zeit eine grobe Einteilung der Coli-Aerogenes-Bakterien vorzunehmen, welche für die meisten praktischen Untersuchungen, wo es sich lediglich um den Nachweis einer fäkalen oder nichtfäkalen Verunreinigung handelt, hinreichend genügt. Speziell in Amerika hat diese Methode in Laboratorien, die sich mit der bakteriologischen Untersuchung von Wasser und Abwasserproben befassen, Eingang gefunden [Standard Methods (160)].

Die Ergebnisse dieser vier nebeneinander durchgeführten Proben wurden dem Vorschlag von Ruchhoft, Kallas, Chinn und Coulter (147) und Demeter und Sauer (21) entsprechend, zu einer leicht übersehbaren Reaktionskombination zusammengestellt. Hierbei war die Reihenfolge in der Schreibweise der vier verschiedenen Reaktionen stets die gleiche, nämlich: Indolprobe, Methylrotprobe, Voges-Proskauer-Reaktion und Zitratprobe. Für das typische Fäkalcolibacterium gilt die Kombination ++——, für das typische Aerogenesbacterium aus Erdboden ——++. Die atypischen Coli-Aerogenes-Bakterien bilden beispielsweise folgende Kombinationen: ++—+, —+—+ oder ++++. Von 16 möglichen Kombinationen wurden bei den hier vorliegenden Untersuchungen jedoch nur 8 angetroffen. Dabei verteilten sich die geprüften 164 Stämme wie folgt auf die einzelnen Kombinationen:

1.	+ + — —	bei	56	Stämmen	angetroffen,
2.	+ + — +	„	7	„	„ ,
3.	— + — —	„	26	„	„ ,
4.	— + — +	„	18	„	„ ,
5.	+ + + —	„	1	„	„ ,
6.	+ + + +	„	26	„	„ ,
7.	— + + +	„	22	„	„ ,
8.	— — + +	„	8	„	„ .

zusammen: 164 Stämme.

Die Reaktionskombinationen +++—, +—+—, +——+, +———, ———+, ——+— und ———— werden nach Ansicht von Ruchhoft und Mitarbeitern und Demeter und Sauer zum Teil von Kulturgemischen und artfremden Mikroorganismen eingegangen. Abgesehen von der Kombination +++— wurden solche Stämme hier nicht isoliert. Die

beiden von Demeter gefundenen Kombinationen —++— und +—++ lagen ebenfalls nicht vor.

Während die Indolprobe und die Zitratprobe eine ziemlich große Konstanz besitzen, haben die vorliegenden Untersuchungen gezeigt, daß die Methylrotprobe und die Voges-Proskauersche Reaktion doch recht oft schwankende Werte ergeben [vgl. Demeter und Sauer (21)]. Aus diesem Grunde wurden noch drei weitere Proben, die in vorzüglicher Weise eine Unterscheidung der typischen Fäkalcolibakterien von den typischen Aerogenesbakterien ermöglichen, mit in diese Betrachtungen einbezogen. Es waren dies die Harnsäureprobe nach Koser (98 u. 100), die Cellobiose-Vergärungsprobe nach Jones und Wise (83) und vor allem die Gärprobe mit Magermilch im Dunbar-Gärröhrchen bei 30°. Die zuletzt genannte Probe wurde für diesen Zweck noch nicht verwendet. Namentlich sie ist es, welcher zweifellos auch eine molkereipraktische Bedeutung zukäme, z. B. bei der Qualitätsbeurteilung der Trinkmilch oder bei der Prüfung der Milch auf Käsereitauglichkeit.

Die typischen Colibakterien bilden in Magermilch bei 30° im Laufe von 24 Std. nur sehr wenige cmm Gärungsgas, die Aerogenesbakterien und ferner sehr viele Coli-Aerogenes-Intermediärformen hingegen ziemlich große Mengen Gas. In einigen Fällen war die Magermilch bei 30° schon nach 24 Std. fast gänzlich aus dem geschlossenen Schenkel des Dunbar-Gärröhrchens verdrängt worden.

Nach Hinzuziehung dieser drei soeben angeführten Proben ließen sich die 164 Coli-Aerogenes-Stämme in 25 neuen Reaktionskombinationen unterbringen. Theoretisch wären sogar 128 Kombinationen denkbar.

Die Ergebnisse der erweiterten Ruchhoft-, Kallas-, Chinn- und Coulterschen Reaktionskombinationen sind in Anlehnung an die Arbeit von Demeter und Sauer (21) in zwei Übersichtstabellen (Tab. 1 und 2) zusammengestellt worden. Aus diesen beiden Tabellen gehen alle näheren Einzelheiten hervor. In Tab. 1 werden die einzelnen Reaktionskombinationen mit den 12 auf Grund des Bergeyschen Einteilungsprinzips erhaltenen Untergruppen in Beziehung gebracht. Tab. 2 gibt Auskunft über die mengenmäßige Beteiligung der 164 Stämme an den einzelnen Reaktionskombinationen und an dem Ausfall einer Reihe weiterer charakteristischer Proben, wie Saccharose-, Raffinose-, Salicin-, Dulcit- und Inosit-Vergärung, „Geldrollenbildung", Abbauvermögen für den roten Blutfarbstoff, Phenolbildung und der Mannit-Vergärung bei 45°.

VII. Einteilung der 164 Coli-Aerogenes-Stämme nach Bergey in 12 Untergruppen.

1. Untergruppe: Saccharose —, Salicin +, Dulcit + (Stamm 1—12).

a) beweglich:

Gruppe „Escherichia coli (Migula) Castellani und Chalmers" = Bact. coli commune Escherich.

Stamm 1—10 dieser Gruppe stimmen in ihren Eigenschaften weitgehend mit denen des typischen Fäkalcolibacteriums überein. Saccharose und Raffinose, ferner Inosit, Cellobiose, Dextrin und Inulin werden nicht vergoren. Zitrat- und Harnsäureprobe verlaufen negativ, Indolprobe positiv. In Magermilch bei 30° im Dunbar-Gärröhrchen entsteht nur sehr wenig Gas.

b) unbeweglich:

Gruppe „Escherichia enterica (Castellani) Weldin" = B. coli immobilis Kruse.

Tabelle 1.

Einteilung der 164 Coli-Aerogenes-Stämme nach 12 Untergruppen und nach 7 der wichtigsten Reaktionen

Gruppe	Reaktionskombination	Indol	Methylrot	Voges-Proskauer	Zitrat	Harnsäure	Cellobiose	Magermilch 30° viel Gas													
									Gruppe:	Bact. coli								Bact. aerogenes			
									Untergruppe:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
									Saccharose:	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
									Salicin:	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	×
									Dulcit:	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—
Bact. coli	I	+	+	—	—	—	—	—		10	4	9	17	4	1	1	2	.	.	.	.
	II					+	—	—		.	1	.	3	.	.	.	.	.	.	.	.
	III					—	—	×		1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	IV					—	+	—		.	.	2	.	.	.	1	.	.	.	.	.
	V	+	+	—	+	—	—	—		1	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.
	VI					—	+	—		.	2	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.
	VII					+	—	—		.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.
	VIII	—	+	—	—	—	—	—		.	1	.	5	3	.	.	11	.	.	.	.
	IX					+	—	—		.	.	.	1	.	1	.	.	.	.	.	.
	X					—	S	—		.	.	1	.	.	1	.	1	.	.	.	.
	XI					—	+	—		.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.
	XII	—	+	—	+	—	—	—		.	.	2	.	.	.	.	3	.	.	.	.
	XIII					+	—	—		.	.	.	2	.	1	.	.	.	.	.	.
	XIV					—	S	—		.	.	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	XV					—	+	—		.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	XVI					—	S	×		.	.	2	.	1	.	.	.	.	.	.	.
	XVII					+	+	—		.	.	1	2	.	.	.	.	.	.	.	.
Bact. aerogenes	XVIII	+	+	+	—	—	+	+		.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.
	XIX	+	+	+	+	+	+	+		.	.	.	.	.	.	.	.	10	16	.	.
	XX	—	+	+	+	+	+	+		.	.	.	.	.	.	.	.	1	14	.	.
	XXI					—	+	+		.	.	.	.	.	.	.	.	.	6	.	.
	XXII					+	—	×		.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.
	XXIII	—	—	+	+	+	+	+		.	.	.	.	.	.	.	.	.	5	.	.
	XXIV					—	+	+		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.
	XXV					+	S	—		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1
Verteilung der 164 Stämme auf die einzelnen Untergruppen:										12 +	8 +	21 +	32 +	8 +	6 +	3 +	17 +	11 +	43 +	2 +	1

Tabelle 2.

Mengenmäßige Verteilung der 164 Coli-Aerogenes-Stämme nach Reaktionskombinationen und nach ihrem Verhalten gegenüber verschiedenen charakteristischen Proben

Gruppe	Reaktions-kombination	Indol	Methylrot	Voges-Proskauer	Zitrat	Harnsäure	Cellobiose	Magermilch 30° viel Gas	
Bact. coli	I					—	—	—	48 Stämme = 29,27%
	II	+	+	—	—	+	—	—	4 ,, = 2,44%
	III					—	—	×	1 ,, = 0,61%
	IV					—	+	—	3 ,, = 1,82%
	V					—	—	—	2 ,, = 1,22%
	VI	+	+	—	+	—	+	—	3 ,, = 1,83%
	VII					+	—	—	2 ,, = 1,22%
	VIII					—	—	—	20 ,, = 12,19%
	IX	—	+	—	—	+	—	—	2 ,, = 1,22%
	X					—	S	—	3 ,, = 1,83%
	XI					—	+	—	1 ,, = 0,61%
	XII					—	—	—	5 ,, = 3,05%
	XIII					+	—	—	3 ,, = 1,83%
	XIV	—	+	—	+	—	S	—	3 ,, = 1,83%
	XV					—	+	—	1 ,, = 0,61%
	XVI					—	S	×	3 ,, = 1,83%
	XVII					+	+	—	3 ,, = 1,83%
Bact. aerogenes	XVIII	+	+	+	—	—	+	+	1 ,, = 0,61%
	XIX	+	+	+	+	+	+	+	26 ,, = 15,85%
	XX					+	+	+	15 ,, = 9,15%
	XXI	—	+	+	+	—	+	+	6 ,, = 3,66%
	XXII					+	—	×	1 ,, = 0,61%
	XXIII					+	+	+	5 ,, = 3,05%
	XXIV	—	—	+	+	—	+	+	2 ,, = 1,22%
	XXV					+	S	—	1 ,, = 0,61%
							zusammen:		164 Stämme = 100 %

Stamm 11 und 12 sind unbeweglich und gehören deshalb nach Bergey in diese Untergruppe. Die weiteren Eigenschaften beider Stämme sind nahezu die gleichen wie die des Bact. coli commune Escherich.

2. Untergruppe: Saccharose —, Salicin +, Dulcit — (Stamm 13—20).

Gruppe „Escherichia paragruenthali Castellani und Chalmers" = Bact. paragruenthali.

Stamm 14, 15 und 16 entsprechen ungefähr den Eigenschaften dieses Bacteriums. Stamm 19 und 20 verhalten sich wie Stamm 14, 15 und 16, sind aber unbeweglich. Stamm 13 bildet kein Indol, Stamm 17 und 18 vergären Laktose nur sehr schwach, säuern ferner Raffinose und verwerten Natriumzitrat als Kohlenstoffquelle.

3. Untergruppe: Saccharose —, Salicin —, Dulcit + (Stamm 21—41).

a) Lackmusmilch sauer und dick:

Gruppe „Escherichia formica (Omelianski) Bergey et al." = Bact. formicum Omelianski.

Stamm 21—28 verhalten sich annähernd wie das Bact. formicum Omelianski, zeigen jedoch beim Wachstum auf Kartoffelscheiben abweichendes Verhalten (schmutzig-weißer bis weißlich-grauer Belag).

Tabelle 2.

Saccharose		Raffinose			Salicin		Dulcit		Inosit			Geldrollenbildung		Hämolyse		Phenolbildung		Mannit 45° C		
Säure u. Gas	—	Säure u. Gas	Säure	—	Säure u. Gas	—	Säure u. Gas	—	Säure u. Gas	Säure	—	+	—	+	—	+	—	Säure u. Gas	Säure	—
8	40	7	0	41	19	29	24	24	0	1	47	20	28	27	21	21	27	46	0	2
0	4	0	0	4	1	3	0	4	0	0	4	2	2	3	1	10	3	4	0	0
0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0
1	2	1	0	2	0	3	3	0	0	0	3	1	2	1	2	1	2	3	0	0
1	1	1	0	1	2	0	1	1	0	0	2	1	1	1	1	0	2	2	0	0
1	2	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	3	1	2	1	2	1	0	2
0	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0	2	2	0	1	1	1	1	1	1	0
14	6	3	8	9	4	16	3	17	0	2	18	5	15	9	11	4	16	9	7	4
1	1	0	0	2	1	1	0	2	0	0	2	0	2	1	1	0	2	0	2	0
2	1	0	1	2	1	2	1	2	0	2	1	1	2	1	2	1	2	1	2	0
1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0
3	2	0	0	5	0	5	2	3	0	0	5	1	4	1	4	0	5	3	0	2
1	2	0	1	2	1	2	0	3	0	0	3	1	2	2	1	3	0	1	1	1
0	3	0	0	3	0	3	3	0	0	0	3	0	3	0	3	2	1	2	1	0
0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0
1	2	0	0	3	1	2	3	0	0	0	3	0	3	0	3	2	1	2	1	0
0	3	0	0	3	0	3	1	2	0	0	3	0	3	3	0	1	2	2	1	0
1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
26	0	26	0	0	26	0	10	16	16	3	7	3	23	17	9	7	19	14	12	0
15	0	14	0	1	15	0	1	14	2	11	2	3	12	6	9	2	13	3	11	1
6	0	3	3	0	6	0	0	6	0	0	6	0	6	5	1	1	5	1	4	1
1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
5	0	5	0	0	5	0	0	5	0	4	1	2	3	2	3	2	3	2	3	0
2	0	1	0	1	0	2	0	2	0	0	2	0	2	1	1	0	2	0	2	0
1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1
91	73	67	13	84	89	75	55	109	19	24	121	42	122	83	81	50	114	101	49	14
164		164			164		164		164			164		164		164		164 Stämme		

b) Lackmusmilch schwach sauer, später alkalisch:

Gruppe „Escherichia vekanda (Castellani) Bergey et al." = B. vekanda Castellani.

Stämme vom Typ „Escherichia vekanda" wurden in vorliegender Arbeit in Milch nicht angetroffen.

c) atypisch:

Stamm 29—41 lassen sich nicht in das Bergeysche System einreihen, da Abweichungen in bezug auf Zitratverwertung, Cellobiosevergärung, Bewegungsvermögen und Indolbildung vorhanden sind. Stamm 33 und 34 zeichnen sich durch stärkere Gasbildung in Magermilch bei 30° im Dunbar-Gärröhrchen aus.

4. Untergruppe: Saccharose —, Salicin —, Dulcit — (Stamm 42—73).

Die Untergruppe 4 zeigt einen sehr uneinheitlichen Charakter. Kligler (94) bezeichnete sie als die Untergruppe des Bact. acidi lactici. Wie schon eingangs erwähnt wurde, ist die systematische Stellung des Bact. acidi lactici außerordentlich umstritten. Hueppe (77) selbst verstand darunter ein Bacterium, welches Saccharose zu spalten vermochte. Die amerikanischen und englischen Forscher, wie Mac Conkey (125), Bergey und Deehan (4),

Jackson (81) und Kligler (94) verwendeten die Bezeichnung Bact. acidi lactici (Hueppe) als Sammelnamen für eine Gruppe ganz anderer Bakterien aus der Coli-Aerogenes-Gruppe, welche im Gegensatz zu den von Hueppe beschriebenen Formen Saccharose und ferner Salicin und Dulcit überhaupt nicht angreifen. Maulhardt (130) schlug deshalb vor, die Bezeichnung „Bact. acidi lactici" in Zukunft ganz zu streichen.

a) Lackmusmilch sauer und dick:

Gruppe „Escherichia vesiculiformans (Henrici) Bergey et al." = B. vesiculiformans Henrici.

Stamm 56—61 dürften identisch sein mit diesem Organismus.

b) Lackmusmilch nach 7 Tagen schwach sauer und dick, später alkalisch:

Gruppe „Escherichia gruenthali (Morgan) Castellani und Chalmers" = Bact. grünthali Fischer.

Stämme vom Typ dieses Organismus befinden sich nicht unter den aus Milch isolierten Colistämmen.

c) Lackmusmilch nur gesäuert, Gelatine verflüssigt:

Gruppe „Escherichia alba Schirre".

Stämme mit den Eigenschaften dieses Bacteriums liegen unter den 164 Coli-Aerogenes-Bakterien ebenfalls nicht vor.

d) atypisch:

Stamm 42—55 und 62—73 weichen in bezug auf Bewegungs- und Indolbildungsvermögen, Cellobiosevergärung, Zitrat- und Harnsäureverwertung sowie hinsichtlich ihres kulturellen Verhaltens von den Haupttypen dieser Gruppe ab und lassen sich nicht in das Bergeysche System einreihen.

5. Untergruppe: Saccharose +, Salicin +, Dulcit + (Stamm 74—81).

a) beweglich:

Gruppe „Escherichia communior (Jackson) Bergey et al." = B. coli communior Durham.

Stamm 74—79 stimmen in ihren Eigenschaften mit denen des Bact. coli communior überein.

b) unbeweglich:

Gruppe „Escherichia neapolitana (Emmerich) Bergey et al." = B. neapolitanus Emmerich.

Stamm 80 ist unbeweglich und dürfte auf Grund seines kulturellen und physiologischen Verhaltens mit dem Neapeler Bacterium identisch sein.

c) atypisch:

Stamm 81 vergärt Laktose nur schwach, säuert Cellobiose, verwertet Zitrat als Kohlenstoffquelle und ist nach Bergey nicht einzuordnen.

6. Untergruppe: Saccharose +, Salicin +, Dulcit — (Stamm 82—87).

Gruppe „Escherichia pseudocoloides Castellani und Chalmers".

Stamm 83 stimmt in seinen Merkmalen mit dem Bact. pseudocoloides überein. Stamm 82 und 84—87 zeigen abweichendes Verhalten in bezug auf Beweglichkeit, Indolbildung, Cellobiose- und Inositvergärung sowie gegenüber der Zitrat- oder Harnsäureprobe. Bei den gärschwachen Stämmen 86 und 87 herrscht außerdem keine Übereinstimmung zwischen der Saccharose- und Raffinosevergärung.

7. Untergruppe: Saccharose +, Salicin —, Dulcit + (Stamm 88—90).

Diese Coli-Untergruppe trägt keine nähere Bezeichnung.

Die drei hierhergehörenden Stämme 88—90 zeigen in ihren weiteren Eigenschaften ungleiches Verhalten. Sie sind nach dem Bergeyschen Bestimmungsschema nicht einzureihen.

8. Untergruppe: Saccharose +, Salicin —, Dulcit — (Stamm 91—107).

a) Gruppe „Escherichia pseudocoscorobae Castellani und Chalmers".

Stamm 97—101 sind unbeweglich und besitzen nahezu die gleichen Merkmale wie das Bact. pseudocoscorobae; geringe Abweichungen sind aber festzustellen. Bei sämtlichen 5 Stämmen fehlt z. B. die Häutchenbildung in Bouillonkulturen, ferner säuern Stamm 97 bis 100 Raffinosebouillon, ohne Gas zu bilden; Stamm 101 greift Raffinose gar nicht an.

b) atypisch:

Die übrigen Stämme der 8. Untergruppe lassen sich nicht nach dem Bergeyschen System bestimmen. Die hauptsächlichen Abweichungen sind folgende: Stamm 91—96 und 105—107 sind beweglich, Stamm 91 und 92 bilden Indol. Stamm 102 und 103 säuern Inosit, Stamm 103 wächst außerdem träge und legt Lackmusmilch nicht dick; Stamm 104 säuert Cellobiose.

9. Untergruppe: Voges-Proskauer +, Saccharose +, Salicin +, Dulcit + (Stamm 108—118).

a) Gruppe „Aerobacter oxytocum (Migula) Bergey et al." = B. oxytocus perniciosus (Flügge).

Stamm 108—111 dürften mit dem Bact. oxytocum identisch sein.

b) atypisch:

Stamm 112—118 zeigen geringe Abweichungen in bezug auf Beweglichkeit, Indolbildung, Inosit- oder Dextrinvergärung und sind nicht nach Bergey zu bestimmen.

Sämtliche 11 Stämme der 9. Untergruppe bilden in Magermilch im Dunbar-Gärröhrchen bei 30° reichlich Gas.

10. Untergruppe: Voges-Proskauer +, Saccharose +, Salicin +, Dulcit — (Stamm 119—161).

Die Untergruppe 10 ist sehr uneinheitlich und weist neben wenigen typischen Formen die verschiedensten Coli-Aerogenes-Intermediärformen auf. Die typischen Vertreter sind folgende:

a) Gruppe „Aerobacter aerogenes (Kruse) Beijerinck" = Bact. lactis aerogenes Escherich.

Stamm 148—151 und 153 stimmen in ihrem kulturellen und physiologischen Verhalten mit diesem Organismus überein. Die Methylrotprobe verläuft negativ.

b) atypisch:

Alle übrigen Stämme dieser Untergruppe, Stamm 119—147, 152 und 154—161 unterscheiden sich von dem typischen Bact. lactis aerogenes durch ihr methylrotpositives Verhalten, ferner in bezug auf den Ausfall der Indolprobe, Inositvergärung oder Prüfung auf Beweglichkeit. Die Stämme sind nicht in das Bergeysche Schema einzuordnen.

Mit Ausnahme von Stamm 161 tritt bei sämtlichen Stämmen der 10. Untergruppe in Magermilch im Dunbar-Gärröhrchen bei 30° starke Gasbildung auf.

11. Untergruppe: Voges-Proskauer +, Methylrot —, Gelatineverflüssigung —, Saccharose +, Salicin —, Dulcit — (Stamm 162—163).

Die 11. Untergruppe trägt keine nähere Bezeichnung. Die beiden hierhergehörenden Stämme sind nach dem Bergeyschen System nicht einzuordnen. Es sind Stämme, die dem Bact. lactis aerogenes sehr nahestehen.

12. Untergruppe: Voges-Proskauer +, Methylrot —, Gelatineverflüssigung +, Saccharose +, Salicin —, Dulcit — (Stamm 164).

Gruppe „Aerobacter cloacae (Jordan) Bergey et al." = B. cloacae Jordan.

Der gelatineverflüssigende Stamm 164 ist identisch mit dem Bact. cloacae.

Die weiterhin in der Bakteriensystematik von Bergey (3) erwähnten Spezies der Coli-Aerogenes-Gruppe wurden unter den 164 aus Milch isolierten Stämmen nicht angetroffen. Die fehlenden Spezies sind folgende:

Escherichia pseudodysenteriae Bergey et al.,
" alcalescens (Ford) Bergey et al.,
" galactophila (Ford) Bergey et al.,
" leporis (Chester) Bergey et al.,
" gastrica (Ford) Bergey et al.,
" plebeia (Ford) Bergey et al.,
" ellingeri (Metalnikov und Chorine) Bergey et al.,
Aerobacter chinense (Chester) Bergey et al.,
" liquefaciens Grimes und Hennerty,
" hibernicum Grimes und Hennerty,
" levans (Wolffin) Bergey et al.,
Escherichia anaerogenes Bergey et al. (= Bact. coli anaerogenes Lembke), (es muß bei Bergey heißen: in Dextrose und Laktose kein Gas, nur Säure), gehört nicht in die Coli-Aerogenes-Gruppe.

Die beiden Spezies

Escherichia acidi lactici (Zopf) Bergey et al. (= Bact. acidi lactici) Hueppe und
" anindolica Bergey et al. (= Bact. anindolicum Lembke)

dürften auf Grund des weiter oben Gesagten aus dem System gestrichen werden.

VIII. Versuche zur Überführung Saccharose nicht vergärender Colistämme in ihre entsprechende Saccharose vergärende Communiorform.

Colistämme, die gegenüber Laktose variieren, sind namentlich unter den aus Wasser und Abwasserproben isolierten Formen keine allzugroße Seltenheit [vgl. Singer (156), Hoder und Singer (70), Hoder und Suzuki (71) und Klie (92)].

Es herrscht heute hierüber allgemein die Ansicht, daß es sich bei dem unterschiedlichen Verhalten mancher Stämme gegenüber Laktose um ein durch veränderte Lebensbedingungen verursachtes Verlorengehen einer fermentativen Fähigkeit oder um eine Wiedererlangung einer ehemals vorhanden gewesenen Eigenschaft handelt.

Eine Umwandlung coliähnlicher Stämme, die es verlernt hatten, Laktose zu vergären, in Stämme, die befähigt waren, diesen Zucker als Kohlenstoffquelle auszunutzen, konnte von Klieneberger (93) in 27 Fällen durch eine Anzahl von Passagen über 1 proz. Milchzuckeragar und von Seydel (153) in 38 Fällen durch ungefähr 30—50 Passagen über 1 proz. Laktose-Peptonwasser (manchmal genügten dabei schon 2—5 Passagen) herbeigeführt werden.

Im Hinblick auf die mitunter zu beobachtende Inkonstanz des Laktose-Spaltungsvermögens lag die Vermutung nahe, daß es vielleicht unter Zuhilfenahme geeigneter Untersuchungsmethoden gelingen würde, bei den normalerweise in Rohmilch regelmäßig vorkommenden Saccharose nicht angreifenden Stämmen aus der Sektion des Bact. coli commune in ähnlicher Weise eine Umwandlung in die entsprechende Communiorform zu erzielen.

Durch eigene Versuche, zu denen 7 Saccharose nicht spaltende Colistämme herangezogen wurden, wurde versucht, die betreffenden Stämme allmählich an Saccharose zu gewöhnen und sie zur Ausbildung des Saccharose spaltenden Enzyms Invertase zu bewegen.

Von Stamm 13, 16, 35, 45, 48, 63 und 76 wurden je 50 Kulturpassagen angelegt und zwar sowohl in Form von Bouillonkulturen mit 0,5% Saccharosezusatz als auch als Ausstrichkulturen über Chinablau-Saccharose-Bouillonagarplatten mit der gleichen Rohrzuckerkonzentration. Bebrütet wurden die Platten 24 Std. bei 30° und die bebrüteten Kulturen noch 2 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Alle 3 Tage erfolgte eine neue Überimpfung. Eine Gewöhnung der untersuchten Stämme an die Vergärung von Saccharose konnte jedoch auf diese Weise im Laufe der 50 Passagen in keinem einzigen Falle erzielt werden.

Erwähnt sei, daß mutabile Colistämme im Sinne von Neisser (132), Massini (129), Burri (12) und Lewis (120) unter den Stämmen der vorliegenden Arbeit nicht angetroffen wurden.

IX. Die Zellkettenbildung bei Colibakterien.

Die Entstehung von Zellketten konnte bei Stamm 10, 38, 42, 44, 66, 76 und 117 regelmäßig in den Bouillonfederstrichkulturen beobachtet werden. Die Zellkettenbildung kommt dadurch zustande, daß die einzelnen Bakterienzellen nach den ziemlich rasch aufeinanderfolgenden Querteilungen jedesmal miteinander im Zusammenhang bleiben (Tafel I, Abb. 2—4 und Tafel II, Abb. 1—4 und 6). Die äußeren Glieder des Zellverbandes haben keinen großen Widerstand seitens des sie umgebenden Mediums (Bouillon) zu überwinden, so daß die Möglichkeit zur freien, ungehinderten Streckung der Kette gegeben ist. Anders ist dies hingegen bei der sogenannten „Geldrollenbildung", auf die später in einem besonderen Kapitel näher eingegangen wird.

Die Kettenbildung trat in den Bouillonfederstrichkulturen nur bei solchen Bakterienzellen auf, welche entweder überhaupt keine oder aber nur eine ganz geringe Eigenbewegung besaßen. Zahlenmäßig herrschten in den Bouillonfederstrichkulturen der kettenbildenden Stämme die Einzel- und Diplozellen in den weitaus meisten Fällen vor. Bei geringer Einsaat entstand manchmal aus jedem der eingesäten Bakterien eine einzige lange Kette (Tafel I, Abb. 3). Die Länge und die Anordnung der Ketten waren sehr verschieden. Manchmal bestanden die Ketten aus ungefähr 10, in anderen Fällen aus weit über 100 Gliedern. Entweder lagen die Bakterienketten ausgestreckt in der Kulturflüssigkeit oder sie waren knäuelartig gewunden und ineinander verschlungen. Die folgenden Untersuchungen hatten den Zweck, festzustellen, an welche Faktoren die Kettenbildung bei Colibakterien geknüpft und wodurch diese Erscheinung in günstigem oder ungünstigem Sinne zu beeinflussen ist.

Als Kulturflüssigkeit diente ein künstliches Nährmedium, bei welchem jedesmal die Menge des hinzugegebenen Phosphats und Stickstoffs variiert wurde, ferner gewöhnliche Bouillon mit der 4fachen Peptonzugabe. Die Zusammensetzung der verwendeten Nährlösungen ist aus Tab. 3 ersichtlich. Vor Anlegen der Federstrichkulturversuche wurde zum Zwecke der Gewöhnung der Stämme an die neuen Wachstumsbedingungen zwei Röhrchenkulturpassagen durch das gleiche Nährmedium dem eigentlichen Versuch voraufgeschickt.

Die Versuchsreihe hat deutlich gezeigt, daß die Entstehung der Kettenbildung von der Art der Ernährung der Bakterien abhängig ist und mit steigender Stickstoff- und Phosphatmenge bei gleichzeitiger Anwesenheit

Tabelle 3.

Abhängigkeit der Kettenbildung von der Art der Ernährung der Zellen.

Bestandteile der 13 Nährlösungen	veränderte anorganische Phosphat-Zusätze			ohne Zusatz von anorgan. Phosphat	Ersatz des Peptons durch verschiedene Mengen Asparagin			ohne Stickstoff	Ersatz des Natriumchlorids durch verschiedene Mengen Lithiumchlorid				ohne Zusatz von anorgan. Chloriden
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
NaCl	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—	—	—	—	—
LiCl	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0,5	0,2	0,2	—
$MgSO_4$	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
$FeSO_4$	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
$CaCl_2$	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	—
$CaCO_3$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5
K_2HPO_4	**0,1**	**0,5**	**0,5**	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0.1	0,1	**0,5**	0,1
KH_2PO_4	**0,1**	**0,5**	**0,5**	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	**0,5**	0,1
$Ca_3(PO_4)_2$	—	—	**1,0**	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pepton (Witte)	1,0	1,0	1,0	1,0	—	—	—	—	1,0	1,0	0,1	1,0	1,0
Asparagin	—	—	—	—	**0,1**	**0,5**	**2,0**	—	—	—	—	—	—
Ketten vorhanden ▦ Ketten nicht vorhanden □													

von Kochsalz zunimmt. Waren reichlich Stickstoff und Phosphate vorhanden (Versuche 2, 3, 6 und 7), so bildeten die zur Kettenbildung befähigten Colistämme regelmäßig mehr oder minder sehr lange Ketten (Tafel I, Abb. 3 und 4). Manchmal waren überhaupt keine Einzelformen oder Diplozellen mehr zu beobachten. Fehlten die anorganischen Phosphate (Versuch 4), der Stickstoff (Versuch 8) oder die Chloride Natrium- und Calciumchlorid (Versuche 9—13), so trat niemals eine Zellkettenbildung auf. (Bei Versuch 13 war das Calciumchlorid durch Calciumcarbonat ersetzt worden.) Ferner wurde beim Wachstum in Bouillon, mit Hefewasser im Verhältnis 1 : 1 vermischt, in Magermilch sowie in Magermilch, die mit Wasser im Verhältnis 1 : 100 verdünnt worden war, eine Kettenbildung nicht beobachtet.

Die Ansprüche, welche die einzelnen Stämme bei der Kettenbildung an die Phosphat- und Stickstoffquelle gestellt haben, waren verschieden groß. Abgesehen von Stamm 10 konnten in der Lösung mit nur 0,1% K_2HPO_4 + 0,1% KH_2PO_4-Zusatz (Versuch 1) regelmäßig keine Ketten gefunden werden dagegen bei Anwesenheit von 0,5% K_2HPO_4 + 0,5% KH_2PO_4 sehr viele (Tafel II, Abb. 2). Ganz analog verhielten sich die Stämme beim Wachstum in den Nährlösungen mit verschiedenen Asparaginmengen. Auch hier wiesen wiederum die Federstrichkulturen mit der geringeren Stickstoffgabe von 0,1% Asparagin außer bei Stamm 10 fast ausschließlich einzeln und zu zweien gelagerte Stäbchen auf (Tafel I, Abb. 1) und nur sehr wenige 3- bis 4gliedrige Ketten sowie vereinzelt Fadenzellen. Bei 0,5% und auch bei 0,2% Asparaginzusatz waren dann, wie bereits erwähnt, stets wundervolle Ketten im Federstrichpräparat zu sehen.

Begünstigt wurde die Zellkettenbildung bei Verwendung einer Bouillon mit der 4fachen Menge Pepton insbesondere dann, wenn noch Zucker (Saccharose oder andere Kohlehydrate) zugegen waren.

Die kettenbildenden Colistämme 42, 44 und 76 besaßen neben dem Kettenbildungsvermögen zugleich auch noch die Fähigkeit der Geldrollenbildung beim Wachstum in den Federstrichkulturen mit der unverdünnten Magermilch.

a) Einfluß des Lithiumchlorids auf die Kettenbildung und Zellform bei Colibakterien.

Bei Ersatz des Natriumchlorids durch das chemisch nahe verwandte Lithiumchlorid blieb die typische Zellkettenbildung ebenfalls aus, selbst dann, wenn in den betreffenden Federstrichkulturen reichlich Stickstoff und Phosphate zugegen waren. Vor allem hatte die Einwirkung des Lithiumchlorids eine völlige Veränderung der Zellform der Colibakterien zur Folge gehabt. An die Stelle der sonst regelmäßig vorliegenden Kurzstäbchenform war die Kugelform getreten, wobei die Anordnung der einzelnen Zellen nicht mehr wie sonst unter normalen Bedingungen eine kettenförmige war, sondern nur noch Zellklumpen und Zellgruppen in den Federstrichpräparaten erkannt werden konnten.

Zur Prüfung der Lithiumchloridwirkung auf die Zellform bei Colibakterien wurden einige Versuche an Hand von Stamm 10, 38, 42, 44, 66, 76 und 117 unter Benutzung der auf Tab. 3 wiedergegebenen Nährlösungen 9—12 durchgeführt. Die angewendeten Lithiumchlorid-Konzentrationen betrugen 0,2, 0,5 und 1,0% LiCl.

Nach Anlegen von zwei Röhrchenkulturpassagen durch das gleiche Nährmedium zum Zwecke der Gewöhnung der Stämme an die veränderten Lebensbedingungen, wurden Federstrichkulturen angefertigt und diese bei 37° 24 Std. bebrütet.

Schon die sehr geringe Konzentration von 0,2% Lithiumchlorid in der Nährlösung genügte, um ein völlig anomales Wachstum der Colibakterien zu bewirken und Kugelformen entstehen zu lassen. Auch nach 20 Übertragungen in gleiches Nährmedium mit 0,2% LiCl, die jeden 2. Tag erfolgten, war keine Gewöhnung an die giftige Wirkung des Lithiumchlorids eingetreten, selbst dann nicht, wenn Phosphate im Überschuß vorhanden waren (Tab. 3, Versuch 12 mit 0,5% K_2HPO_4, 0,5% KH_2PO_4 und 1,0% Pepton). Die Zellen behielten ihre kugelförmige Gestalt bei.

Über die Ursachen der durch Lithiumchlorid hervorgerufenen Zellschädigungen gehen die Ansichten der verschiedenen Autoren stark auseinander.

Neuerdings hat Richter (143) — siehe hier auch die Literatur — einige interressante Studien über die Einwirkung des Lithiumchlorids auf die Bakterienzelle angestellt und den Entwicklungsvorgang der Kugelformbildung kinematographisch im Bilde festgehalten. Auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse zieht Richter den Schluß, daß die Kuhnsche sowie Kleinebergersche Theorie auf die unter dem Einfluß von Lithiumchlorid entstehenden heteromorphen Wuchsformen der Colibakterien nicht anwendbar sind, d. h. also, daß die durch Lithiumchlorid hervorgerufenen kugelförmigen Zellveränderungen nichts anderes darstellen als unter abnormen Umweltsbedingungen entstandene teratologische Wuchsformen.

Ähnlich wie Lithiumchlorid übt auch Natriumchlorid bei Coli-Aerogenes-Bakterien in Konzentrationen über 5% NaCl eine stark schädigende Wirkung auf die Entwicklung der Bakterienzelle aus, wie Hausam (55), Henneberg und Kniefall (67) und Henneberg und Wendt (68) gezeigt haben. Hierbei können die verschiedenartigsten Zellgebilde, wie schlauchförmig aufgetriebene Zellen, größere und kleinere Kugelformen, zum Teil mit großen Hohlräumen, ferner Faden-, Kokken- oder verzweigte Formen auftreten.

Die schädliche Wirkung des Natriumchlorids hört in ähnlicher Weise wie beim Lithiumchlorid sofort wieder auf, wenn die Bakterien wieder auf Nährboden mit normalem Salzgehalt zurückgebracht werden.

X. Die „Geldrollenbildung“ in Milchfederstrichkulturen.

Wie bereits in einem früheren Abschnitt erwähnt wurde, konnte bei einem großen Teil der isolierten Bakterienstämme sowohl in den Vollmilch- als auch in den Magermilchfederstrichkulturen neben den für gewöhnlich einzeln oder zu zweien gelagerten Kurzstäbchen immer auch eine geldrollenartige Anordnung von Bakterienzellen beobachtet werden. Nicht selten lagen 20 und mehr Bakterienzellen nebeneinander in einer Reihe. Dadurch entstand der Eindruck, als hätten wir es hier mit einer Längsteilung bei Mikroorganismen zu tun (Tafel I, Abb. 5—8 und Tafel III). Eine Längsteilung der Bakterien ist nun aber bis heute noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden. Aus diesem Anlaß heraus erschien es für wichtig genug, der seltsamen Erscheinung der „Geldrollenbildung“ auf den Grund zu gehen und an

Hand zweier Colistämme mit besonders typischer Anordnung der „Geldrollen" (Stamm 43 und 45) zu prüfen, ob hier tatsächlich eine Längsteilung vorliegt.

Zunächst wurden die Temperatur-Optima, -Maxima und -Minima der Geldrollenbildung durch Anlegen von Milchfederstrichkulturen bei Zimmertemperatur, 30°, 37° und 45° bestimmt. Das Optimum der Geldrollenbildung lag ungefähr bei 37°; bei 30° waren ebenfalls nach 24 Std. Geldrollen ausgebildet, nur weniger weitgehend. In den bei Zimmertemperatur (ca. 17°) und in den bei 45° gehaltenen Federstrichen konnte eine Geldrollenbildung auch nach 7 Tagen nicht beobachtet werden. Allmählich trat dann durch die an jedem 3. Tage vorgenommene Weiterzüchtung der Stämme in steriler Magermilch eine Gewöhnung an die niedrigeren Temperaturen und damit auch eine Verschiebung des Temperaturminimums für die Geldrollenbildung nach unten ein, so daß schließlich nach 3 Monaten schon innerhalb der ersten 24 Std. bei Zimmertemperatur eine üppige Geldrollenbildung einsetzte, die nun fast ebenso stark ausgeprägt war, wie früher in den bei 37° bebrüteten Kulturen. Erst nachdem es gelungen war, die beiden Stämme auch schon bei Zimmertemperatur zur Ausbildung von Geldrollen zu bewegen, war es möglich, diese Erscheinung auf Grund von Dauerbeobachtungen genau zu verfolgen. Alle zuvor bei 30° und bei 37° unternommenen Dauerbeobachtungsversuche haben nicht zum Ziele geführt. In der Hauptsache lag dieses in der bereits durch minimale Temperaturschwankungen hervorgerufenen Veränderung der Molekularbewegung begründet. Die Colibakterien, welche sich zuvor geldrollenartig angeordnet hatten, zeigten bei der geringsten Temperaturerhöhung schwach tänzelnde Bewegungen und traten aus der typischen Zellgruppierung heraus.

Bei den später bei Zimmertemperatur mit Erfolg durchgeführten Dauerbeobachtungsversuchen wurde die Geldrollenbildung mikrophotographisch sowie durch Zeichnung festgehalten[1]).

Die Dauerbeobachtungsversuche haben ergeben, daß die Geldrollenbildung gewöhnlich erst 10—12 Std. nach der Beimpfung in den Milchfederstrichkulturen einsetzt, wenn bereits eine nennenswerte Vermehrung des eingeimpften Bakterienmaterials stattgefunden hatte und durch die Wachstumstätigkeit der Bakterien eine strukturelle Veränderung der Federstrichmilch herbeigeführt worden war.

Diese strukturelle Veränderung der Milch äußerte sich darin, daß die aus dem Milchzucker der Milch entstehende Säure eine fällende Wirkung auf die Eiweißmoleküle der Milch ausübte und ganz allmählich den Gerinnungsprozeß des Kaseins in die Wege leitete, wobei die Dichte des Mediums zunahm.

Aufzufassen ist die Geldrollenbildung in den Milchfederstrichkulturen gleichsam als eine Art von Kettenbildung, wobei die endständigen Glieder der entstehenden Bakterienkette nicht mehr imstande sind, den Widerstand des Kulturmediums ganz zu überwinden. Es kommt dann zu Knickungen

[1]) Besondere Vorsichtsmaßnahmen, wie Vorschalten von Wärmeschutzscheiben und kurzes Einwirkenlassen der Lichtquelle mußten dabei eingehalten werden, um die Bakterien in ihrem Wachstum nicht zu schädigen. Ferner mußte darauf geachtet werden, daß vor Beginn des Dauerversuchs auch wirklich ein Ausgleich zwischen der Temperatur des Mikroskops und der Raumtemperatur stattgefunden hatte, da die Federstrichkulturen sonst bei Untertemperatur des Mikroskops an ihrer inneren Objektträger-Hohlfläche stets beschlugen und das mikroskopische Bild hierdurch undeutlich wurde. Durch Anwendung eines heizbaren Objekttisches, der leider nicht zur Verfügung stand, hätten sich sicherlich manche der unerwünschten Störungen vermeiden lassen.

der zumeist nur aus wenigen Gliedern bestehenden Kette und im weiteren Wachstumsverlauf zur Zwischeneinanderverschiebung der einzelnen Zellen, wobei schließlich eine geldrollenartige Zellanordnung erkennbar wird. Auf Tafel III ist der Vorgang der Geldrollenbildung unter Verwendung eines Zeichenprismas dargestellt.

Nur solche Bakterienzellen, die keinerlei Bewegung mehr aufwiesen, schickten sich zur Geldrollenbildung an. (Bei der Kettenbildung war dieses ebenso.) Abb. 1—8 auf Tafel III zeigen einfache Teilungsvorgänge. In Abb. 10 (links) ist bereits eine Knickung der sechsgliedrigen Bakterienkette infolge des Widerstandes seitens der veränderten Federstrichmilch eingetreten. In Abb. 11 (links) sind die Kettenglieder einander nähergerückt und kommen z. T. mit ihrer Längsseite nebeneinander zu liegen. In Abb. 12 (links) schicken sich die schon geldrollenähnlich liegenden Zellen erneut zur Teilung an und in Abb. 13 (links) hat sich die Teilung schon vollzogen. Wieder teilen sich die betreffenden Stäbchen (Abb. 14, links). Dann erfolgt ein doppeltes Umkippen der hintereinanderliegenden, aus je 4 Zellen bestehenden „Geldrollen" (Abb. 15, links), so daß schließlich hierbei ein Teil der Bakterienzellen sich in der Weise anordnet, daß nur die Pole als kleine Kreise zu erkennen sind (Abb. 16, links; vgl. auch Tafel I, Abb. 6). Hier liegen die Bakterien und „Geldrollen" senkrecht zur Bildebene. Ähnlich liegen die Verhältnisse in Abb. 10—16 (rechts). In diesem Falle kommt es bei Abb. 15 (rechts) zu einer Knickung der Kette und in Abb. 16 (rechts) zu einem Umklappen der Zellen. Immer wieder erfolgen neue Zellteilungen; stets bewirkt dabei die große Dichte des Kulturmediums eine behinderte Streckungsmöglichkeit der kurzen Bakterienketten. Dieses führt dann zu einer Nebeneinander- und Zwischeneinanderlagerung der verschiedenen Geldrollengruppen, wobei schließlich Geldrollen bis zu 20 und mehr nebeneinander gelagerter Bakterien zu sehen sind (Tafel I, Abb. 7 u. 8).

In diesem Zusammenhang muß erwähnt werden, daß die Geldrollenbildung auch in Bouillon mit einem Zusatz von 0,1 oder 0,2% Yokohama-Agar-Agar auftrat.

Nachdem es mit Hilfe von Dauerbeobachtungsversuchen gelungen war, das Zustandekommen der Geldrollenbildung in ihrem zeitlichen Verlauf unter dem Mikroskop zu verfolgen, wurde versucht, die Entstehungsursache dieses eigenartigen Phänomens zu ergründen. Zunächst lag die Vermutung nahe, daß die Zellmembran der an der Geldrollenbildung beteiligten Bakterienzellen außen mit einer klebrigen Hülle umgeben sein könnte. Hierdurch hätte die Erscheinung der Geldrollenbildung in einem bloßen Aneinanderkleben der Zellen eine einfache Erklärung gefunden. Die angestellten Versuche, im Achatmörser fein zerriebene Carminpartikelchen sowie durch Verbrennen von Benzol als Ruß gewonnene feinste Kohlepartikelchen an der Zellwand der zur Geldrollenbildung befähigten Colistämme zum Anhaften zu bringen, bekräftigen diese Vermutung jedoch nicht.

Zur Ausführung des Versuchs wurden die feinen Carmin- sowie Kohleteilchen in steriler Magermilch zur Suspension gebracht und von einigen der Geldrollen bildenden Colistämme erstens Federstrichkulturen bei 30° hierin angelegt, zweitens Kohle- bzw. Carminteilchen zu 24 Std. alten Magermilchkulturen, in denen bereits eine Geldrollenbildung stattgefunden hatte, hinzugegeben und dann im Klatschpräparat die Einwirkung der Carmin- oder Kohleteilchen auf die Bakterienzellen untersucht. Weder im Klatschpräparat, noch im Federstrichpräparat, ließ sich aber ein Anhaften der

Carmin- oder Kohlepartikelchen an den Bakterienzellen nachweisen, so daß man wohl annehmen darf, daß bei den zur Geldrollenbildung befähigten Colibakterien eine klebrige Zellhülle nicht vorliegt.

Beim Mikroskopieren fiel besonders auf, daß die in den Milchfederstrichkulturen entstandenen „Geldrollen" höchstens 3 Tage lang gut wahrnehmbar bleiben und die an der Geldrollenbildung beteiligten Zellen verhältnismäßig rasch absterben. Da es für denkbar erschien, die Geldrollenbildung als eine Absterbeerscheinung aufzufassen und ihre Entstehung mit der Anwesenheit von Bakteriophagen in Beziehung zu bringen, wurden einige diesbezügliche Proben durchgeführt.

Durch Anlegen von Passagen in verschieden stark angesäuerter Magermilch sollte bei Stamm 9, 43, 45 und 75 versucht werden, etwa vorhandene Bakteriophagen auszuschalten und phagenfreie Stämme zu gewinnen. Als Kulturmedium diente sterile Magermilch mit verschiedenen p_H-Werten ($p_H = 6{,}3$; 5,8 und 5,3). Die Einstellung der Milch auf die gewünschten p_H-Zahlen geschah mit Hilfe von Milchsäure. Auf die in den Magermilchröhrchen mit den p_H-Werten von 5,8 und 5,3 nach dem Sterilisieren zu beobachtende Säureausflockung des Kaseins wurde kein besonderes Augenmerk gerichtet und lediglich für eine grobe Zerteilung des zusammengeballten Kaseins mit der Impfnadel während des Beimpfens der Röhrchen gesorgt.

Nach Einimpfen der Stämme in Röhrchen mit der betreffenden Magermilch und anschließender Bebrütung der Kulturen bei 37° wurde täglich eine Übertragung in das gleiche Medium vorgenommen und die neuen Kulturen in derselben Weise behandelt. Nach 4, 8 und 20 Passagen wurden jedesmal Federstrichkulturen in normaler Milch ($p_H = 6{,}6$) angelegt und diese bis zu 48 Std. bei 30° bebrütet. Bei keinem der 4 verwendeten Stämme konnte hernach weder ein Fehlen noch eine Verminderung der Geldrollenbildung im Vergleich zu früher festgestellt werden. Somit erscheint es zweifelhaft, daß die Entstehungsursache der Geldrollenbildung in einer Phagenwirkung zu suchen ist.

Schließlich blieb nur noch übrig, die geldrollenartige Aneinanderlagerung der Bakterienzellen auf Adhäsionsvorgänge zurückzuführen und zu vermuten, daß elektrostatische Kräfte dabei in irgendeiner Weise wirksam sein könnten. Es hat sich gezeigt, daß das Geldrollenbildungsvermögen ziemlich konstant ist und auch bei den betreffenden Stämmen nach zweijähriger Fortzüchtung auf Bouillonschrägagar noch nicht verlorengegangen war.

Von den 164 isolierten Milchcolistämmen bildeten 42 Stämme Geldrollen, 122 Stämme (darunter die schleimbildenden Aerogenesformen) nicht. Ein differentialdiagnostisches Merkmal für die Systematik der Coli-Aerogenes-Gruppe ließ sich aus der Fähigkeit der Geldrollenbildung nicht herleiten (vgl. Tab. 2).

Eine Geldrollenbildung ist von Henneberg gelegentlich auch bei Bact. fluorescens und vulgare beobachtet worden.

E. Zusammenfassung.

Es wurde der Versuch gemacht, die 164 aus Rohmilch isolierten Coli-Aerogenes-Stämme in das von Bergey aufgestellte Bestimmungsschema einzuordnen. Die Einreihung war auf Grund des Ausfalls der Voges-

Proskauer-Reaktion sowie der Vergärungsproben mit Saccharose, Salicin und Dulcit möglich, wobei sich die 164 Stämme in 12 Untergruppen unterbringen ließen.

Die Magermilchgärprobe im Dunbargärröhrchen bei 30° ist praktisch wichtig und eignet sich in hervorragendem Maße zur Abgrenzung der Coli- von den Aerogenesbakterien. Im Laufe von 24 Std. bilden die Colibakterien in Magermilch nur wenige Kubikmillimeter, die Aerogenes- und aerogenesähnlichen Bakterien hingegen viele Kubikzentimeter Gärungsgas. Der Gasquotient ($CO_2 : H_2$) läßt sich nur bei den Kulturen mit Aerogenes- und aerogenesähnlichen Bakterien ermitteln.

Die Zellkettenbildung ist weitgehend abhängig von der Art der Ernährung der Zellen; es können Ketten nur in Anwesenheit ausreichender Mengen Phosphat und Stickstoff entstehen.

Die „Geldrollenbildung“ in den Milchfederstrichkulturen ist als eine besondere Art von Zellkettenbildung aufzufassen und stellt keine Längsteilungserscheinung der Bakterienzelle dar. Infolge des erheblichen Widerstandes seitens des die Bakterien umgebenden Mediums (langsam gerinnende Milch) kommt es zu Knickungen der sich bildenden kurzen Zellketten und durch Adhäsionsvorgänge schließlich zu der typischen Zellanordnung. Der Vorgang der „Geldrollenbildung“ wurde unter Zuhilfenahme eines Zeichenprismas im Bilde festgehalten.

Der Ausfall der Indolprobe ist ebenfalls von der Zellernährung abhängig. In Bouillonkulturen mit Kohlehydraten und kohlehydratähnlichen Substanzen sowie in Kulturen mit Magermilch verläuft die Indolreaktion stets negativ.

Der Acetylmethylcarbinol-Nachweis verläuft in 5 Tage bei 30° bebrüteten Magermilchkulturen (in flacher Schicht in Petrischalen) weit sicherer und deutlicher als in gleich alten Glukosebouillonkulturen.

Die Hämolyseprobe gestattet keine Unterscheidung der pathogenen von den nicht pathogenen Coli-Aerogenes-Bakterien.

Bei der Gramfärbung verhalten sich die Coli-Aerogenes-Bakterien unter normalen Bedingungen stets negativ. Durch erhöhte Stickstoffgaben gelingt es, einen positiven Ausfall der Gramfärbung herbeizuführen.

Das Bewegungsvermögen stellt bei den Coli-Aerogenes-Bakterien ein sehr inkonstantes Artmerkmal dar, so daß der Prüfung auf Beweglichkeit in systematischer Hinsicht keine nennenswerte Bedeutung zukommt.

Die in den Milchfederstrichkulturen bei manchen Colistämmen häufig auftretende Schleimbildung kann auf eine Phagenwirkung nicht zurückgeführt werden.

Das variierende Verhalten mancher Stämme gegenüber Lackmusmilch dürfte in einer zeitlich verschieden stark ausgeprägten Aktivität der laktosespaltenden Enzyme begründet liegen.

Beim Wachstum der Coli-Aerogenes-Stämme in Gelatinestichkulturen lassen sich mehrere verschiedene Wachstumstypen unterscheiden.

Die Wachstumsform der Riesenkolonien auf Bouillonagar wird weitgehend beeinflußt durch die Wasserstoffionenkonzentration und den Feuchtigkeitsgehalt des Nährbodens.

Literaturverzeichnis.

1. Abraham, G., Untersuchungen über eine durch ein atypisches Colibakterium hervorgerufene Milchinfektion. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 113. 1929. S. 74—80.) — 2. Barsiekow, M., Beiträge zur Differentialdiagnose des Typhusbacillus. (Wien. klin. Rundsch. Jahrg. 15. 1901. Nr. 44. S. 823—825.) — 3. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 4th. Ed. London (Baillière, Tindall & Cox) 1934. — 4. Bergey, D. H., and Deehan, S. J., The Colon-aerogenes group of bacteria. (Journ. Med. Res. Vol. 19. 1908. p. 175—200.) — 5. Bitter, L., Zur Methodik des Typhusbakteriennachweises in Stuhl und Urin. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 59. 1911. S. 474.) — 6. Böhme, A., Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 40. 1905. S. 129—133.) — 7. Bulír, J., Bedeutung und Nachweis des Bacterium coli im Wasser und eine neue Modifikation der Eijkmanschen Methode. (Arch. f. Hyg. Bd. 62. 1907. S. 1—13.) — 8. Bredford, R. H., A rapid method for obtaining the Voges-Proskauer Reaction. (Journ. Bact. Vol. 18. 1929. p. 93—94.) — 9. Buchgraber, J. und Hilkó, J., Über die Frage der Colihaemolyse. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 133. 1935. S. 449—458.) — 10. Buchner, H., Beiträge zur Kenntnis des Neapeler Cholerabacillus und einiger demselben nahestehender Spaltpilze. (Arch. f. Hyg. Bd. 3. 1885. S. 361—442.) — 11. Bunker, G. C., Tucker, E. J., and Green, H. W., A modification of the technique of the Voges and Proskauer Reaction. (Journ. Bact. Vol. 3. 1918. p. 493—498.) — 12. Burri, R., Über scheinbar plötzliche Neuerwerbung eines bestimmten Gärungsvermögens durch Bakterien der Coligruppe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. S. 231—345.) — 13. Burri, R. und Düggeli, M., Beiträge zur Systematik der Coli-Aerogenes-Gruppe nebst Beschreibung einer neuen Methode zur Untersuchung der Gärungsgase. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 49. 1909. S. 145—174.) — 14. Castellani, A., and Chalmers, A. J., Manual of Tropical Medicine. 3th. Ed. London (Baillière, Tindall & Cox) 1919. — 15. Clark, Wm. M., and Lubs, H. A., The differentiation of Bacteria of the colon-aerogenes-Family by the use of Indicators. (Journ. Infect. Dis. Vol. 17. 1915. p. 160—173.) — 16. Clark, Wm. M., and Lubs, H. A., The colorimetric determination of Hydrogen ion concentration and its applications in bacteriology. (Journ. Bact. Vol. 2. 1917. p. 1—34, 109—136, 191—236.) — 17. Clemesha, E. E. C., The bacteriology of inland waters in the tropics. Calcutta, London 1912. (Zit. nach Levine: Journ. Bact. Vol. 1. 1916. p. 153—164.) — 18. Conradi, H., and Bierast, W., Bact. coli commune als Krankheitserreger in: Kolle-Wassermann, Hdb. d. path. Mikroorg. 2. Aufl. 6. Bd. 1913. Kap. XXI. S. 482—514. — 19. Demeter, K. J., Bakteriologische und biologische Untersuchungsmethoden in: Winkler, Hdb. d. Milchwirtschaft. S. 334—387. Wien (Verl. Springer) 1930. — 20. Demeter, K. J., Bakteriologische Untersuchungsmethoden von Milch, Milcherzeugnissen, Molkereihilfsstoffen und Versandmaterial in: Abderhalden, Hdb. d. biol. Arbeitsmethoden. Abt. XII. Teil 2. Heft 5. 1934. S. 665—770. — 21. Demeter, K. J. und Sauer, Fr., Beiträge zur Kenntnis der Coli-Aerogenes-Bakterien in Milch. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 16. 1934. S. 236—276.) — 22. Demeter, K. J., Sauer, Fr. und Miller, Mx., Vergleichende Untersuchungen über verschiedene Methoden zur Coli-Aerogenes-Titerbestimmung in Milch. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 265—280.) — 23. Dominick, J. F., and Lauter, C. J., Journ. Amer. Water Works Assoc. Vol. 21. 1929. p. 1067 (zit. nach Shunk). — 24. Dorner, W., and Hellinger, Esthor, Studies on the Voges-Proskauer Test. (Journ. Bact. Vol. 29. 1935. p. 16.) — 25. Dozis, K. P., Hachtel, F., Carr, C. J., and Krantz, J. C., A study of acid and gas formation by members of the colon-aerogenes-intermediate group in the presence of certain sugar alcohols and their anhydrides. (Journ. Bact. Vol. 30. 1935. p. 189—192.) — 26. Dunbar, Wm., Untersuchungen über den Typhusbacillus und den Bacillus coli communis. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. S. 485—508.) — 27. Durham, H. E., A simple Method for Demonstrating the Production of gas by Bacteria. (British Med. Journ. Vol. 1. 1898. p. 1387.) — 28. Durham, H. E., Some theoretical considerations upon the nature of agglutinins, together with further observations upon bacilli typhi abdominalis, bacillus enteritidis, bacillus coli communis, bacillus lactis aerogenes and some other bacilli of allied character. (Journ. Exper. Med. Vol. 5. 1900/01. p. 353—396.) — 29. Ehrenfest, H., Studien über die „Bacterium coli-ähnlichen" Mikroorganismen normaler menschlicher Faeces. (Arch. f. Hyg. Bd. 26. 1896. S. 369—385.) — 30. Ehrismann, O., Bakteriologische Differentialdiagnose in: Abderhalden, Hdb. d. biol. Arbeitsmeth.

Abt. XII. Teil 2. Heft 2. 1933. S. 285 u. 288. — 31. Eijkman, C., Die Gärungsprobe bei 46° als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 37. 1904. S. 742—752.) — 32. Eisenberg, Ph., Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. VI. Mitt.: Variabilität in der Typhus-Coli-Gruppe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 80. 1918. S. 399.) — 33. Emmerich, R., Untersuchungen über die Pilze der Cholera asiatica. (Arch. f. Hyg. Bd. 3. 1885. S. 290—360.) — 34. Escherich, Th., Die Darmbakterien des Säuglings und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung. Stuttgart 1886. (Zit. nach Escherich und Pfaundler.) — 35. Escherich, Th. und Pfaundler, M., Bacterium coli commune in: Kolle-Wassermann, Hdb. d. path. Mikroorganismen. 1. Aufl. Bd. 2. Kap. VI. 1903. S. 334—474. — 36. Fischer, A., Hemmung der Indolbildung bei Bacterium coli in Kulturen mit Zuckerzusatz. (Biochem. Ztschr. Bd. 70. 1915. S. 105—118.) — 37. Fischer, Bernh., Zur Aetiologie der sog. Fleischvergiftungen. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. S. 447—510.) — 38. Frieber, W., Ist das Gasverhältnis H_2: CO_2 ein Differentialdiagnostikum bei Typhus-coli-ähnlichen Bakterien? (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 71. 1913. S. 534—542.) — 39. Frieber, W., Zum Nachweis von Phenol in Bakterienkulturen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 86. 1921. S. 58—60.) — 40. Gaffky, Erkrankungen an infektiöser Enteritis infolge des Genusses ungekochter Milch. (Dtsch. Med. Wochenschr. Jahrg. 18. 1892. Nr. 14. S. 297—300.) — 41. Gassner, G., Der Metachromgelb - Wasserblau - Dreifarbennährboden für Typhus - Ruhr - Untersuchungen. (Münch. med. Wochenschr. 1917. S. 505.) — 42. Gersbach, Der Nachweis fäkaler Wasserverunreinigung mittels der Indolprobe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 88. 1922. S. 145.) — 43. Gilbert, A., et Lion, G., Contribution à l'étude des bactéries intestinales. (Semaine médicale. Année 13. 1893. p. 97.) — 44. Goré, S. N., The cotton wool plug test for indole. (Indian Journ. Med. Research. Vol. 8. 1920/21. p. 505—507.) — 45. Gorrieri, J., A propos de quelles perfectionnements dans la technique de l'épreuve de Voges-Proskauer pour l'étude du groupe coli-aerogenes. Società Internationale di Microbiologia. (Bolletins della Sezione Italiana. Bd. 4. 1932. S. 199 ff.; im Referat: Milchwirtschaftl. Literaturber. 1932. S. 478.) — 46. Gottsacker, E., Über den Nachweis von Bacterium coli mit Hilfe der Indolprobe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 129. 1933. S. 517—520.) — 47. Graaff, W. C. de, Untersuchungen über Indolbildung des Bacterium coli commune. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 49. 1909. S. 175—178.) — 48. Gustavson, F., A case of mass-infection by B. coli in milk. (N. amer. Veterinarian. Vol. 12. 1931. Nr. 2. p. 26—27; im Referat: Milchwirtschaftl. Literaturber. 1931. Nr. 49. S. 234.) — 49. György, P., Beitrag zur Systematik der Paracoli-Bazillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 84. 1920. S. 321—386.) — 50. Hammer and Yale, M. W., Development of the Escherichia-Aerobacter group of bacteria in butter. (Journ. Dairy Sci. Vol. 15. 1932. p. 199—208.) — 51. Harden, A., The chemical action on glucose of the Lactose-fermenting organisms of faeces. (Journ. of Hyg. Vol. 5. 1905. p. 488—493.) — 52. Harden, A., On Voges and Proskauer's Reaction for Certain Bacteria. (Proceed. Roy. Soc., London. Ser. B. Vol. 77. 1906. p. 424—425.) — 53. Harden, A., and Walpole, G. St., Chemical Action of Bacillus lactis aerogenes (Escherich) on Glucose and Mannitol: Production of 2:3-Butyleneglycol and Acetylmethyl-carbinol. (Proceed. Roy. Soc., London. Ser. B. Vol. 77. 1906. p. 399—405.) — 54. Harden, A., and Norris, Dorothy, The Bacterial Production of Acetylmethylcarbinol and 2:3-Butyleneglycol from Various Substances. I. and II. (Proceed. Roy. Soc., London. Ser. B. Vol. 84. 1912. p. 492—499; Vol. 85. p. 73—78.) — 55. Hausam, W., Untersuchungen über Bacterium coli. Inaug.-Dissert., Kiel 1930. — 56. Hees, H. und Tropp, C., Vergärung substituierter Kohlehydrate durch Bakterien der Coli- und Lactis aërogenes-Gruppe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 100. 1926. S. 273—284.) — 57. Henneberg, W., Die Wichtigkeit der Federstrichkulturen für die bakteriologischen Untersuchungen in milchwirtschaftlichen Laboratorien. (Molkerei-Ztg., Hildesheim. Jahrg. 1928. Nr. 131.) — 58. Henneberg, W., Rohmilch, Vorzugsmilch, dauerpasteurisierte Milch und Markenmilch. (Molkerei-Ztg., Hildesheim. Jahrg. 1930. Nr. 12.) — 59. Henneberg, W., Die Wichtigkeit der Chinablauagar-Petrischalen für die bakteriologischen Untersuchungen in milchwirtschaftlichen Laboratorien. (Molkerei-Ztg., Hildesheim. Jahrg. 1930. Nr. 21.) — 60. Henneberg, W., Das Bitterwerden von Milch, Butter und Käse. (Molkerei-Ztg., Hildesheim. Jahrg. 1931. Nr. 41.) — 61. Henneberg, W., Ueber die Bakterien im gesunden Kuheuter. (Molkerei-Ztg., Hildesheim. Jahrg. 1932. Nr. 92, 94, 95, 97, 98, 100.) — 62. Henneberg, W., Untersuchungen über nützliche

und schädliche Käsepilze. (Molkerei-Ztg., Hildesheim. Jahrg. 1933. Nr. 52.) — 63. Henneberg, W., Beeinflussung der Darmflora durch den Genuß von Milch, Sauermilch, Joghurt, Reformjoghurt (Acidophilusmilch), Käse u. Milchsäurebakterienkulturen. (Molkerei-Ztg., Hildesheim. 1934. Sonderabdruck Nr. 1064.) — 64. Henneberg, W., Zur Kenntnis der stäbchenförmigen Milchsäurebakterienarten, Vorkommen im Menschen und Tier. Ansiedlungsversuche durch Genuß von Milch, Käse und Reinkulturen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1934/35. S. 102—135.) — 65. Henneberg, Wilh. und Georg, Neue Untersuchungen über stäbchenförmige Vagina- und Darmmilchsäurebakterien des Menschen. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 14, 1935. S. 126—127.) — 66. Henneberg, W., und Kniefall, H. Zur Kenntnis der Erreger der schleimigen Milch. (Molkerei-Ztg., Hildesheim. Jahrg. 1933. Nr. 64, 65, 66.) — 67. Henneberg, W. und Kniefall, H., Einfluß von Kochsalz auf das Wachstum und die Zellform bei Milchsäurebakterien, Bact. coli, Bact. aerogenes und einigen anderen wichtigen Milchbakterien. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 17. 1935. S. 146—157.) — 68. Henneberg, W. und Wendt, H., Untersuchungen über hitzeresistente Coli-Stämme. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 93. 1935. S. 1—4 und 39—45.) — 69. Hill, Seidman. Stadnichenko, Ellis, A study of two hundred cultures of gramnegative Bacilli isolated from cases of genito-urinary infection. (Journ. Bact. Vol. 17. 1929. p. 205—246.) — 70. Hoder, F. und Singer, E., Atypische, der Coli-Paratyphus-Gruppe angehörende Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 105. 1927/28. S. 7—14.) — 71. Hoder, F. und Suzuki, K., Vergleichende Untersuchungen natürlich vorkommender und künstlich erzeugter paratyphusähnlicher Stämme. (Ztschr. f. Immunitäts-Forsch. Bd. 52. 1927. S. 420—444.) — 72. Holliger, W., Bakteriologische Untersuchung über Mehlteiggärung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. 1902. S. 305—312 und 361—371.) — 73. Holst, A., Beobachtungen über Knetkäse. (Zentralbl. f. Bakt. Bd. 20. 1896. S. 160—168.) — 74. Horowitz-Wlassowa und Rodinowa, Über die Azetoingärung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 87. 1932/33. S. 333—339.) — 75. Horwood, M. P., and Heifetz, A., A comparative study of certain media used in presumptive tests for Bact. coli. (Journ. Bact. Vol. 28. 1934. p. 199—211; Journ. Bact. Vol. 27. p. 57—58.) (Ref.) — 76. Howe, E. C., A Biometric Investigation of certain Non-sporeforming Intestinal Bacilli. (Science. Vol. 35. 1912. p. 225.) — 77. Hueppe, F., Untersuchungen über die Zersetzung der Milch durch Mikroorganismen. (Kap.: Die Organismen der Milchsäuregärung.) (Mitt. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt Berlin. 1884. [S. 309—371], S. 337 ff.) — 78. Hüttig, C., Über die Entstehung von Milchsäurestreptokokken aus Bakterien der Coligruppe. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 12. 1932. S. 455—471.) — 79. Hüttig, C., Versuche über Blähungserscheinungen bei Weichkäsen durch Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe. (Molkerei-Ztg., Hildesheim. Jahrg. 1933. Nr. 53.) — 80. Hüttig, C., Die Abhängigkeit der Käseblähung von der „Disposition" der Anlieferungsmilch. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jahrg. 1934. Nr. 12.) — 81. Jackson, D. D., Classification of the B. coli group. (Journ. infect. Dis. Vol. 8. 1911. p. 241—249.) — 82. Jansen, J. D. und den Doren de Jong, L. E., Über eine durch Bacterium coli communior zu Rotterdam verursachte Massenvergiftung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 117. 1930. S. 193—202.) — 83. Jones, H. N., and Wise, L. E., Cellobiose as an aid in the differentiation of members of the colon aerogenes group of Bacteria. (Journ. Bact. Vol. 11. 1926. p. 359—366.) — 84. Johnson, B. R., Colilike organisms of the soil. (Journ. Bact. Vol. 1. 1916. p. 96.) — 85. Johnson, B. R., and Levine, M x., Characteristics of coli-like microorganisms from the soil. (Journ. Bact. Vol. 2. 1917. p. 379—401.) — 86. Jordan, E. O., Caldwell, Mary E., and Reiter, Dorothy, Bacterial Motility. (Journ. Bact. Vol. 27. 1934. p. 165—174.) — 87. Kähler, K. H., Beiträge zur Kenntnis pathogener Colibakterien. Inaug.-Dissert., Kiel 1935. — 88. Kessler, M. A., and Swenarton, J. C., Gentiana violet peptone bile for the detection of Bact. coli in milk. (Journ. Bact. Vol. 14. 1927. p. 47—53.) — 89. Kitasato, S., Die negative Indol-Reaktion der Typhusbacillen im Gegensatz zu anderen ähnlichen Bacillenarten. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889. S. 515—520.) — 90. Kitt, Th., Euterentzündungen und deren Erreger. (Kolle-Wassermann, Hdb. d. path. Mikroorg. Bd. 6. 1913. S. 96—120.) (2. Aufl.) — 91. Klang, Nachweis des Bact. coli in Milch durch Gasbildung in Gentianaviolettgallepeptonmilchzuckerlösung. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 12. 1932. p. 494—499.) — 92. Klie, H. E., Der Nachweis von Keimen der Art Bacterium coli und deren Formen in der Kieler Bucht. Inaug.-Dissert., Kiel 1936. — 93. Klieneberger, E., Die Erzeugung von Modifikationen durch spezifischen Reiz als Mittel der Artcharakterisierung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 104. 1927. S. 456

—459.) — 94. Kligler, I. J., Studies on the classification of the colon group. (Journ. Infect. Dis. Vol. 15. 1914. p. 187—204.) — 95. Klimmer, M., Haupt, H. und Borchers, F., Über das Vorkommen und die Bestimmung der Coli-Aerogenes-Bakterien in Milch. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 9. 1929. S. 236—248.) — 96. Klingenstein, R., Ueber die Konstanz des Hämolysierungsvermögens bei Coli-Bazillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 98. 1926. S. 94—97.) — 97. Kořínek, Zur Biologie der Bakterienkolonie. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1934. S. 184—195.) — 98. Koser, St. A., The employment of uric acid synthetic medium for the differentiation of B. coli and B. aerogenes. (Journ. Infect. Dis. Vol. 23. 1918. p. 377—379.) — 99. Koser, St. A., Utilization of tho salts of organic acids by the colon-aerogenes group. (Journ. Bact. Vol. 8. 1923. p. 493—520.) — 100. Koser, St. A., Differential tests for colon-aerogenes group in relation to sanitary quality of water. (Journ. Infect. Dis. Vol. 35. 1924. p. 14—22.) — 101. Koser, St. A., Is ability to utilize citrate readily acquired or lost by the colon-aerogenes group? (Journ. Infect. Dis. Vol. 35. 1924. p. 315—322.) — 102. Koser, St. A., Correlation of citrate utilization by members of the colon aerogenes group with other differential characteristics and with habitat. (Journ. Bact. Vol. 9. 1924. p. 59—75.) — 103. Koser, St. A., Further observations on the salts of organic acids by the colon aerogenes group. (Journ. Bact. Vol. 11. 1926. p. 409—417.) — 104. Koser, St. A., and Galt, R. H., The oxalic acid test for indol. (Journ. Bact. Vol. 11. 1926. p. 296—304.) — 105. Koser, St. A., and Saunders, F., The utilization of certain sugars and their derivatives by bacteria. (Journ. Bact. Vol. 26. 1933. p. 475—488.) — 106. Kovács, N., Eine vereinfachte Methode zum Nachweis der Indolbildung durch Bakterien (mit Amylalkohol). (Ztschr. f. Immun.-Forsch. Bd. 55. 1928. S. 311—315.) — 107. Kovács, N., Weitere Untersuchungen über den Indolnachweis in Bakterienkulturen. Die Indolbildung auf festen Nährböden. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 123. 1931. S. 391—397.) — 108. Kruse, in: Flügge, C., Die Mikroorganismen. II. Teil. S. 336—350. Leipzig (Verl. Vogel) 1896. — 109. Lange, L., Demonstration eines „polytropen Nährbodens", „P. N." Vortrag auf der 6. Tagung d. freien Vereins für Mikrobiologie, Berlin 1912. (Zentralbl. f. Bakt. Beil. zu Abt. I, Ref. Bd. 54. 1912. S. 58.) Abgeänderte Vorschrift: Ztschr. f. Hyg. Bd. 110. S. 3 (1929), Vorschrift zur Bereitung des Nährbodens siehe O. Ehrismann. S. 288. — 110. Lehmann, K. B. und Neumann, R., Bakteriologische Diagnostik. 1. Aufl. Lehmann's Medizin. Handatlanten. Bd. 10. Teil I u. II. München (J. F. Lehmann) 1896. — 111. Lehmann, K. B. und Neumann, R. O., Bakteriologie, insbesondere bakteriologische Diagnostik. 7. Aufl. I. u. II. Bd. München (J. F. Lehmann) 1926 u. 1927. — 112. Leifson, E., An improved reagent for the acetyl-methyl-carbinol test. (Journ. Bact. Vol. 23. 1932. p. 353—354.) — 113. Leifson, E., The fermentation of sodium malonate as a means of differentiating Aerobacter and Escherichia. (Journ. Bact. Vol. 26. 1933. p. 329—330.) — 114. Lembke, W., Beitrag zur Bacterienflora des Darms. (Arch. f. Hyg. Bd. 26. 1896. S. 293—328.) — 115. Lembke, W., Berichtigung zu meiner Arbeit „Beitrag zur Bacterienflora des Darms" in Bd. 26 dieses Archivs. (Arch. f. Hyg. Bd. 27. 1896. S. 392.) — 116. Lembke, W., Bacterium coli anindolicum und Bacterium coli anaerogenes. (Arch. f. Hyg. Bd. 27. 1896. S. 384—391.) — 117. Levine, Mx., On the significance of the Voges-Proskauer-Reaction. (Journ. Bact. Vol. 1. 1916. p. 153—164.) — 118. Levine, Mx., The Correlation of the Voges-Proskauer and Methyl Red Reaction in the Coli-Aerogenes group of Bacteria. (Journ. Infect. Dis. Vol. 18. 1916. p. 358—367.) — 119. Levine, Mx., Preliminary note on the classification of some Lactose fermenting Bacteria. (Journ. Bact. Vol. 1. 1916. p. 619—621.) — 120. Lewis, J. M., Bacterial variation with special reference to behavior of some mutabile strains of colon bacteria in synthetic media. (Journ. Bact. Vol. 28. 1934. p. 619—638.) — 121. Liebermann, L. und Acél, J., Neuer gefärbter Nährboden zur scharfen Unterscheidung säurebildender Bakterien von anderen, insbesondere des Colibazillus vom Typhusbazillus. (Dtsch. med. Wochenschr. Bd. 2. 1914. S. 2093.) — 122. Lindner, P., Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 6. Aufl. S. 154—165. Berlin (Parey) 1930. — 123. Löhnis, F., Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 18. 1907. S. 97—149.) — 124. MacConkey, A., Lactose-fermenting bacteria in faeces. (Journ. of Hyg. Vol. 5. 1905. p. 333—379.) — 125. MacConkey, A., Further observations on the differentiation of lactose-fermenting bacilli with special reference to those of intestinal origin. (Journ. of Hyg. Vol. 9. 1909. p. 86—104.) — 126. Majer, G., Bakteriophagen-Untersuchungen an Colibakterien der Kuh. Inaug.-Dissert., Kiel 1927. — 127. Malcolm, J. F., The occurrence of coliform Bacteria in Milk. (Journ. Dairy

Research. Vol. 5. 1933. p. 15—28.) — 128. Malone, R. H., and Goré, S. N., A criticism of various methods of applying the nitroso-indole and rosindole reactions based on a comparative study of their delicacy and specificity. (Indian Journ. of Med. Research. Vol. 8. 1920/21. p. 490—504.) — 129. Massini, Über einen in biologischer Beziehung interessanten Kolistamm (Bacterium coli mutabile). (Arch. f. Hyg. Bd. 61. 1907. S. 250—291.) — 130. Maulhardt, J., Klassifizierung der in Kot und Milch vorkommenden, gramnegativen, Milchzucker vergärenden Bakterien. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 1. 1930. S. 165—175.) — 131. Migula, W., System der Bakterien. Bd. 2. Jena (G. Fischer) 1900. — 132. Neisser, J. N., Ein Fall von Mutation nach de Vries bei Bakterien und andere Demonstrationen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Ref. Bd. 38. Beiheft 1906. S. 98—102.) — 133. Nißle, A., Die normalen Darmbakterien und ihre Bedeutung für den Organismus in: Hdb. d. path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. 6. Teil 1. 1929. S. 391—414. — 134. Nißle, A., Die Colibakterien und ihre pathogene Bedeutung. (Hdb. d. path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. 6. Teil 1. 1929. S. 415—448.) — 135. Nystedt, Svensk Veterinärtidskr. 1902. S. 41 (zit. nach: H. Magnusson. 1927: Sjukdomar av betydelse för mjölk-produktionen och mjölkhygien. Svenska Jordbrukets Bok. p. 500—501. Stockholm [Alb. Bonniers] 1927). — 136. Oesterle, P., Bacterium coli flavum. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 134. 1935. S. 115—118.) — 137. O'Meara, R. A. Q., A simple delicate and rapid method of detecting the formation of acetylmethylcarbinol by bacteria fermenting carbohydrate. (Journ. Path. a. Bact. Vol. 34. 1931. p. 401—406, im Referat: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 85. 1932. S. 283.) — 138. Paine, Fr., The destruction of acetyl-methylcarbinol by members of the colon-aerogenes group. (Journ. Bact. Vol. 13. 1927. p. 269—274.) — 139. Parr, L., The occurrence and significance of so-called atypical Reactions in the Colon-aerogenes group. (Journ. Bact. Vol. 27. 1934. p. 42—43.) — 140. Quantz, E., Über die Bedeutung des Bacterium coli für die Wasserbeurteilung. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 78. 1914. S. 193—227; Rezept: S. 202.) — 141. Rahn, O., Contributions to the Classifications of Bacteria. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 78. 1929. S. 1—21.) — 142. Rhein, M., Über die Bildung von Phenol im menschlichen Darm. (Biochem. Ztschr. Bd. 84. 1917. S. 246—263.) — 143. Richter, K., Untersuchungen über den Einfluß von Lithiumchlorid auf Bacterium coli. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 90. 1934. S. 134—148.) — 144. Ritter, C., Journ. Amer. Water Works Assoc. Vol. 24. 1932. p. 413—424 (zit. nach Shunk). — 145. Rogers, L. A., Clark, Wm. M., and Davis, B. Y., The colon group of bacteria. (Journ. Infect. Dis. Vol. 14. 1914. p. 411—475.) — 146. Rogers, L. A., Clark, Wm. M., and Evans, Alice, The characteristics of Bacteria of the colon Type found in bovine feces. (Journ. Infect. Dis. Vol. 15. 1914. p. 99—123.) — 147. Ruchhoft, C. C., Kallas, I. G., Chinn, B., and Coulter, E. W., Coli-Aerogenes Differentiation in Water Analysis I a. II. (Journ. Bact. Vol. 21. 1931. p. 407—440; Vol. 22. p. 125—181.) — 148. Salle, A. J., A system for the bacteriological examination of water. (Journ. Bact. Vol. 20. 1930. p. 381—406.) — 149. Scarles, W. B., and Hammer, B. W., Species of Escherichia-Aerobacter-Organisms responsible for some defects in dairy products. (Journ. Bact. Vol. 25. 1933. p. 461—467.) — 150. Scheffler, W., Das Neutralroth als Hilfsmittel zur Diagnose des Bakterium coli. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 28. 1900. S. 199—205.) — 151. Scholl, H., Die Milch. Ihre häufigeren Zersetzungen und Verfälschungen mit spezieller Berücksichtigung ihrer Beziehungen zur Hygiene. Wiesbaden (J. F. Bergmann) 1891. S. 27—37. — 152. Schmidt, Th., Untersuchungen über Hämolyse bei Coli- und anderen Darmbakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 50. 1909. S. 359—373.) — 153. Seydel, Sur certaines souches de B. coli ayant perdu la propriété de faire fermenter le lactose. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 111. 1932. p. 107—108.) — 154. Shunk, I. V., Comparative studies of presumptive test media for the coli-aerogenes group of bacteria. (Journ. Bact. Vol. 29. 1935. p. 163—172.) — 155. Silberstein, F., Rappaport, F. und Kolmer, E., Versuche einer Differenzierung innerhalb der Coligruppe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 124. 1932. S. 32—40.) — 156. Singer, E., Bacterium coli im Wasser. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Ref. Bd. 95. 1929. S. 385—405, 433—449.) — 157. Smith, Th., Ueber die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien für Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 18. 1895. S. 1—9.) — 158. Smith, Th., Notes on Bacillus coli communis and related forms, together with some suggestions concerning the bacteriological examination of drinking water. (Amer. Journ. of Med. Sci. Vol. 110. 1895. p. 283—302.) — 159. Smith, F. R., and Henderson, I. L., B. coli in mastitis, with accompanying changes in milk composition. (Journ. Dairy Sci. Vol. 17. 1934. p. 799—803.) — 160. Stan-

dard Methods for the Examination of water and sewage 7th Ed Publication office Amer Public Health Assoc New York 1933, 370 Seventh Avenue — 161 Stearn, Esther W, and Stearn, A E, The effect of the reaction of the medium on the characteristics of bacteria I (Journ Bact Vol 26 1933 p 9—36) — 162 Stocker, W, Bakteriologische Erfahrungen und ihre Nutzanwendung auf dem Gebiete der Kaserei (Suddtsch Molk Ztg, Kempten 52 Jahrg 1931 S 1778—1780) — 163 Stutzer und Kwashina, In Aussaaten aus den Fazes des Menschen gelbe Kolonien bildende Bakterien (Zentralbl f Bakt Abt I Orig Bd 113 1929 S 219—225) — 164 Voges, O und Proskauer, B, Beitrag zur Ernahrungsphysiologie und zur Differentialdiagnose der Bakterien der hamorrhagischen Septicamie (Ztschr f Hyg Bd 28 1898 S 20—32) — 165 Weintraub, A, Ueber Glukosidspaltung durch Bakterien der Coli Gruppe (Zentralbl f Bakt Abt I, Orig Bd 91 1924 S 273—280) — 166 Weisser, Ueber die Emmerich'schen sog Neapler Cholerabakterien (Ztschr f Hyg Bd 1 1886 S 315—362) — 167 Werkman, C H, An improved technic for the Voges-Proskauer test (Journ Bact Vol 20 1930 p 121—125) — 168 Werkman, C H, and Gillen, Journ Bact Vol 23 1932 p 167 (zit nach Bergey) — 169 Williams, O B, and Morrow, Marie B, The bacterial destruction of acetyl methylcarbinol (Journ Bact Vol 16 1928 p 43—48) — 170 Winslow, C E A, Kligler, I J, Rothberg, W, Studies on the classification of the colon typhoid group of bacteria with special reference to their fermentative reactions (Journ Bact Vol 4 1919 p 429—503) — 171 Yale M W, The Escherichia aerobacter group of bacteria in dairy products (Journ Dairy Sci Vol 16 1933 p 481—494) — 172 Zopf, W, Die Spaltpilze 3 Aufl Separatabdruck aus der Encyklopaedie der Naturwissenschaften S 87 Breslau (E Trewendt) 1885

Tafelerklarung.

Tafel I

Abb 1 Kettenbildender Colistamm 66 in synthetischer Nahrlosung (5) mit 0,1% Asparagin, Federstrichkultur 48 Std bei 30°, keine Ketten Vergr 500 ×

Abb 2 Kettenbildender Colistamm 76 in synthetischer Nahrlosung (2) mit 0,5% losl Phosphat, Federstrichkultur 24 Std bei 30° Vergr 500 ×

Abb 3 Kettenbildender Colistamm 38 in synthetischer Nahrlosung (2) mit 0,5% losl Phosphat, Federstrichkultur 24 Std bei 30° Vergr 500 ×

Abb 4 Kettenbildender Colistamm 38 in 0,5 proz Saccharosebouillon mit der 4 fachen Menge Pepton, Federstrichkultur 48 Std bei 30° Vergr 500 ×

Abb 5 Vollmilchfederstrichkultur von Bact coli, Stamm 43 nach 48 Std bei 30° Vergr 1000 × (Geldrollen)

Abb 6 Vollmilchfederstrichkultur von Bact coli, Stamm 43 nach 48 Std bei 30° (nur die Bakterien Pole sichtbar) Vergr 1000 × (Geldrollen)

Abb 7 Magermilchfederstrichkultur von Bact coli, Stamm 43 nach 24 Std bei 37° Vergr 1200 × (Geldrollen)

Abb 8 Magermilchfederstrichkultur von Bact coli, Stamm 43 nach 24 Std bei 37° Vergr 1200 × (Geldrollen)

Tafel II

Vergroßerung der Zeichnungen = 2000 ×

Abb 1 Kettenbildender Colistamm 38, Bouillonfederstrichkultur nach 24 Std bei 30°

Abb 2 Kettenbildender Colistamm 44, synthetische Nahrlosung mit 0,5% losl Phosphat Federstrichkultur nach 48 Std bei 30°

Abb 3 Kettenbildender Colistamm 44, synthetische Nahrlosung mit 2% Asparagin Federstrichkultur nach 48 Std bei 30°

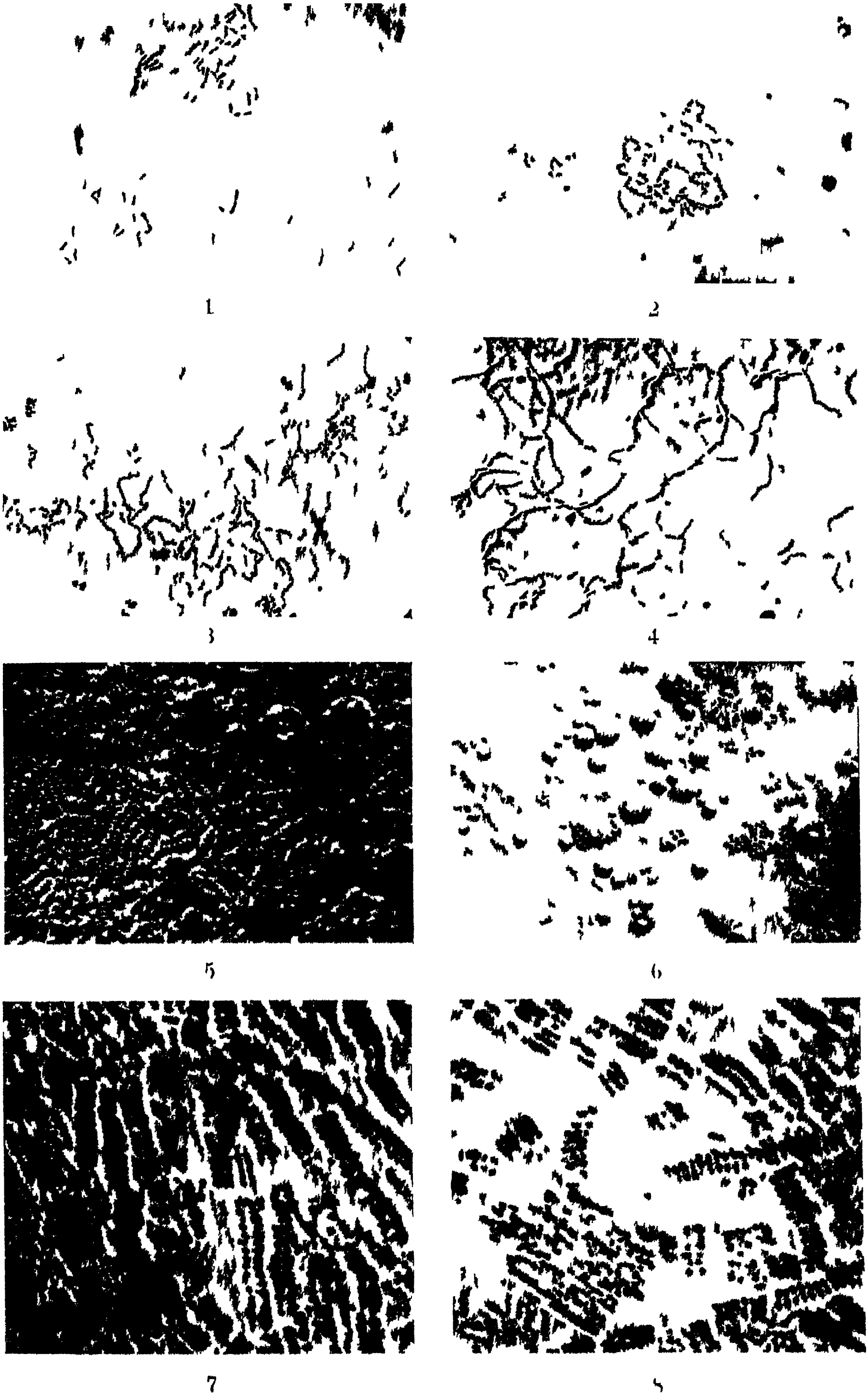
Abb 4 Kettenbildender Colistamm 66, Bouillon mit der 4 fachen Menge Pepton Federstrichkultur nach 48 Std bei 30°

Abb 5 Kettenbildender Colistamm 66, Magermilch 1 100 mit aqua dest verdunnt Federstrichkultur nach 24 Std bei 30° (besonders große Zellen, keine Ketten)

Abb 6 Kettenbildender Colistamm 117, Saccharosebouillon mit der 4 fachen Menge Pepton Federstrichkultur nach 48 Std bei 30°

Abb 7 Kettenbildender Colistamm 42, synthetische Nahrlosung mit 0,1% Lithiumchlorid Federstrichkultur nach 48 Std bei 30° (keine Ketten)

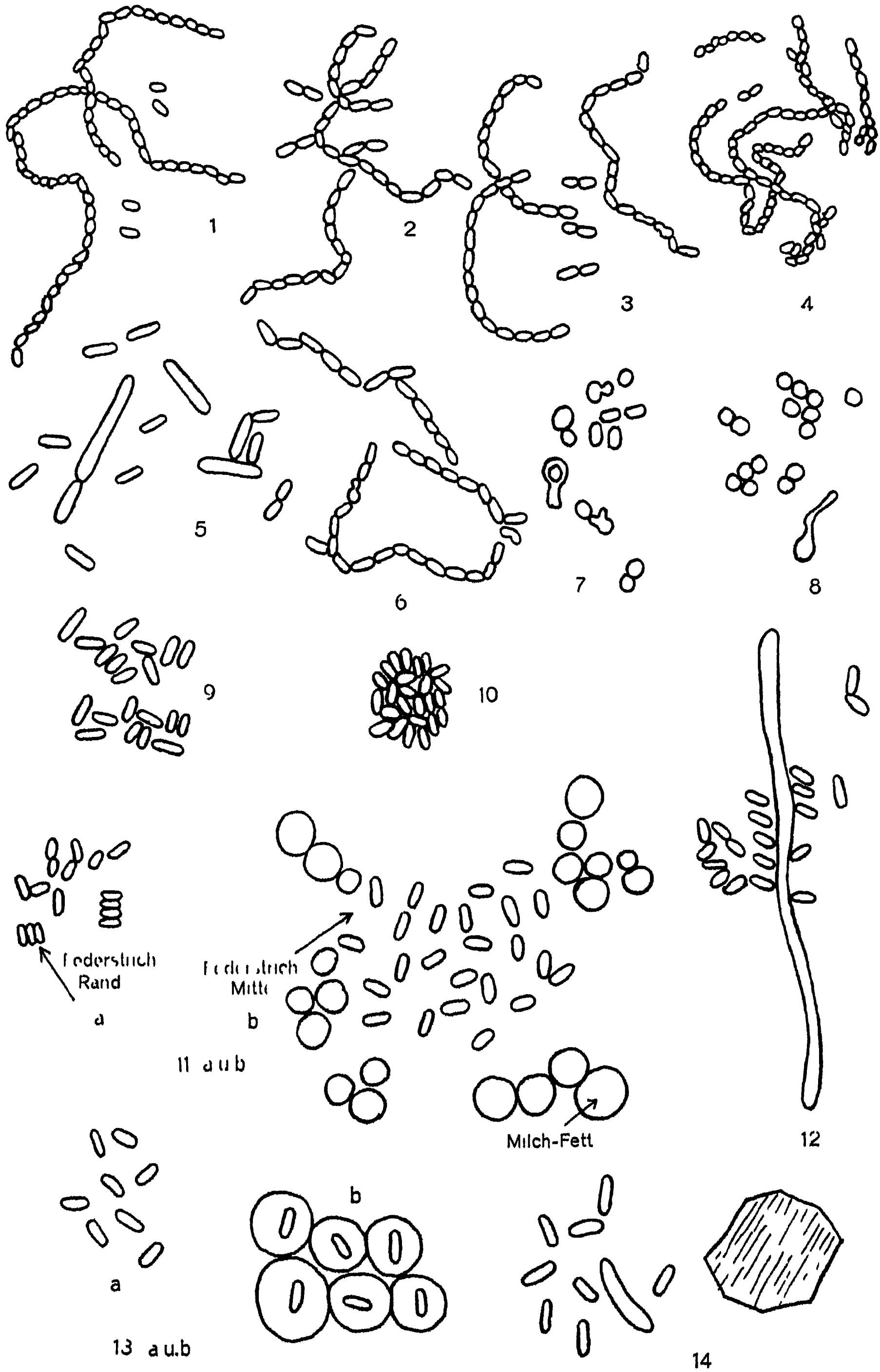
Abb 8 Kettenbildender Colistamm 44, synthetische Nahrlosung mit 1% Lithiumchlorid Federstrichkultur nach 48 Std bei 30° (keine Ketten)



1 2 3 4 5 6 7 8

Verlag von Gustav Fischer in Jena

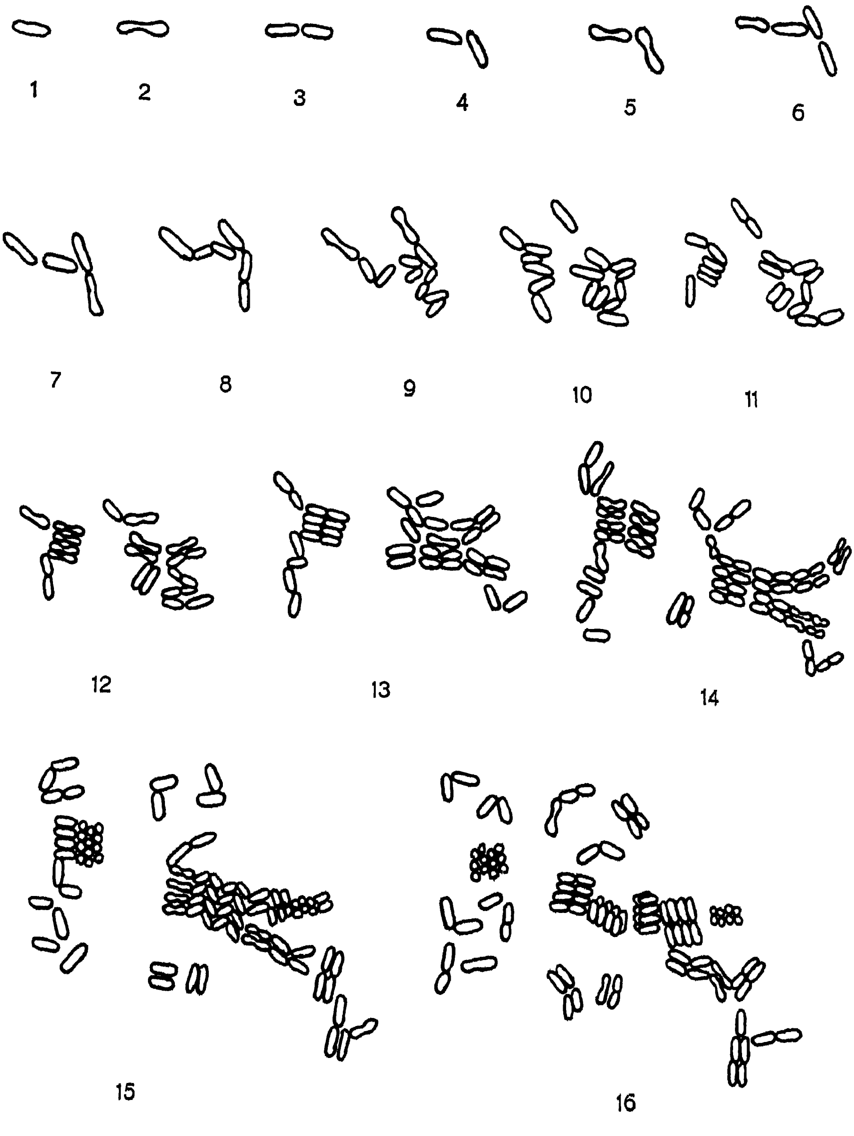
Mikroskopisches Bild der Federstrichkulturen



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Die Entstehung der „Geldrollenbildung“

Ergebnis einer 7stündigen Dauerbeobachtung einer Milch-Federstrichkultur von Bact. coli Stamm 43 bei Zimmertemperatur



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Abb. 9. Stamm 130, normales Bild einer Vollmilchfederstrichkultur nach 48 Std. bei 30°.

Abb. 10. Stamm 8, Vollmilchfederstrichkultur nach 24 Std. bei 30°. Zellklumpenbildung bei fehlender Schleimbildung.

Abb. 11. Stamm 63, Vollmilchfederstrichkultur nach 24 Std. bei 30°. Bakterienzellen am Federstrichrand (Abb. 11 a) normal gelagert, in der Federstrichmitte (Abb. 11b) in Schleimabständen.

Abb. 12. Stamm 10, Bouillonfederstrichkultur nach 24 Std. bei 37° mit mehreren Fadenzellen.

Abb. 13. Stamm 144, Vollmilchfederstrichkultur nach 48 Std. bei 30°. Bakterienzellen in der Federstrichmitte (Abb. 13 a) in Schleimabstanden gelagert, am Federstrichrand (Abb. 13 b) von Schleimkapseln umgeben.

Abb. 14. Stamm 139, Vollmilchfederstrichkultur nach 48 Std. bei 30°. Zellen in Schleimabständen, Kristallbildung.

Tafel III.

Die Entstehung der „Geldrollenbildung" bei Stamm 43.

Vergrößerung der Zeichnungen = 2000 ×

Abb. 1—7. Einfache Zellteilungsvorgänge der Colibakterien.

Abb. 8—10. Knickung der kurzen Bakterienketten infolge des Widerstandes seitens des Nährmediums (langsam gerinnende Magermilch).

Abb. 11 und 12. Näherrucken der einzelnen Kettenglieder und Beginn der geldrollenartigen Zellanordnung.

Abb. 13—16. Erneute Teilung der an der „Geldrollenbildung" beteiligten Zellen. Umklappen vereinzelter „Geldrollen" und Sichtbarwerden ihrer Zellpole.

A Study of Lactobacillus acidophilus and Saccharomyces cerevisiae.

I. Comparative Value of Media Recommended for Lactobacillus acidophilus.

By Roy L. Mobley.

Bacteriologist and Biochemist, Lacto-Yeast Co., Inc., Baton Rouge, Louisiana.

There has been so many methods and media suggested in the literature for the cultivation of Lactobacillus acidophilus until a thorough study leads one into a state of confusion and doubt as to the method he will employ in attempting further work with this microorganism.

Sherman and Albus (1) suggested a medium for certain Lactobacilli; Bachman (2), one for colonies; Albus and Holm (3), one for surface tension studies; Gompertz and Vorhaus (4), one for therapeutic purposes; Difco Laboratories (5), three for properties of milk; Kulp and Rettger (6, 7), five for carbohydrate requirements and culturing Lactobacillus acidophilus and bulgaricus; Kulp (8), one for larger colonies of acidophilus and bulgaricus; Rettger and Cheplin (9), one in intestinal flora work; Hunter (10), one for the culturing of acidophilus and bulgaricus; Kulp and White (11), one for colonies and counts using a carbon dioxide atmosphere; Rettger and Kulp (12), one for carbohydrate requirement; Devereux (13), one for colony formation; and Kopeloff (14), one for the estimation of viable numbers in milk and feces.

As a result of the reviewing of the literature appertaining to this microorganism it became evident that an evaluation of these substrata for their ability to support growth, and to give typical colony characteristics within a

reasonable time, when employing the simple bacteriological methods, would be of value to further research. Kopeloff (15) used the modified whey agar of Rettger and Cheplin (9) and incubated his plates as long as eight days. Others gave but little if any information as to the time of incubation. In no instance has any medium been compared to another.

The formulae of these media are tabulated from the original sources in Table 1.

Table 1. Formulae of Media Recommended.

No.	Authors or name of medium	Ingredients Used in Preparing One Liter								Sterilization	
		Peptone	Meat Extract	Whey	Substances added	Gm. or ccs.	Agar agar	Water	pH	Pounds	Minutes
1	Sherman and Albus	10			Dry Yeast Butterfat	10 10	10.0	1000	7.0		
2	Bachman				Cabbage, Shredded C-Sodium phosphate Sodium chloride	25 25 5	10.0	1000	7.0	15	15
3	Albus and Holm	10	10		Yeast Lactose 5% Brom cresol purple	10 10 .5	10.0	1000	7.0	15	15
4	Gompert and Vorhaus	10	4		Lactose Sodium Chloride	50 5		1000	7.0		
5	Difco	5		40	Galactose	10	10.0	1000	6.4	20	15
6	Klim's Digest				Klim (digested) Maltose or Sucrose	10 10	10.0	1000	7.0	15	15
7	Kulp and Rettger	10			Yeast Lactose Skim Milk	10 10 1	10.0	1000	70	15	15
8	Kulp	10			Tomato Juice	400	10.0	600	6.5	15	15
9	Rettger a. Cheplin	5		1000			10.0		6.5	15	15
10	Hunter	15	3		Casein (digested) Lactose 2% Sodium oleate	15 15	15.0	1000	7.0	—	—
11	Kulp and Rettger		3		Casein (digested) Galactose	10 10	10.0	1000	7.0		
12	Kulp and Rettger		3		Klim Galactose	10 5	15.0	1000			
13	Difco			13				1000	6.5	20	15
14	Difco				Peptonized Milk	15	12.0	1000	6.5	20	15
15	Kulp and White	10			Peptonized Milk Tomato Juice	10 400	11.0	600	6.0		8
16	Rettger and Kulp	5		1000	Galactose	10	10.0		6.5		
17	Devereux				Peptonized Milk Yeast Extract Salt Dextrose	10 5 5 10	15.0	1000	7.0	15	15
18	Kopeloff	5		1000	Egg Albumen	3	12.0		7.0	15	15

— Method of sterilization not given.

Of the eighteen media utilized in acidophilus cultural work (see Table 1) eleven have from one half to one and one half percent peptone; five have meat extract, five have whey, three of which are made up entirely of whey as the liquid phase, by volume; three have peptonized milk; four have yeast or yeast extract; two have tomato juice; two have sodium chloride; one has o-sodium phosphate; one has butterfat; one has vegetable extract; one has egg albumen; two have a digested casein; four have digested milk; four have galactose; one has glucose; fourteen have lactose originally in milk products or added; and one has maltose. Only four of these media contain no constituents of milk other than lactose.

Strains used in the tests.

The culture used throughout all of these tests was made compositely of equal parts of a vigorous 24 hours broth culture of Kopeloff's single cell fecal strain, Bass and John's, Rettger's, Mulford's, B. B. Laboratory's, and other cultures isolated from therapeutic preparations listed in New and Non-Official Remedies. This mixture was used that discrepancies might be eliminated due to slight morphological variations, to completely insure strains of some therapeutic value being utilized and to limit the volume of work necessary should the various strains have been examined separately. They were carried separately in milk and Gompertz and Vorhaus' broth and mixed aseptically at the time of using.

Plating method.

By means of the haemocytometer counting chamber a dilution was calculated and made from the mixture so that one cubic centimeter contained approximately 175 to 300 active cells. One cc. was transferred to each of six petri dishes which were then poured with 25 ccs of the medium to be tested. The broths were solidified by the addition of 15 grams of agar agar per liter. As soon as the agar had set to a gel they were placed in a 37 degree incubator for 6 days.

Readings were made at the 2, 4 and 6 day periods by means of the low power objective. The size of the colony was taken as a means of comparison. The measurements were made in microns: P = 50; PP = 100; PPP = 150; and PPPP = 200 or more microns in diameter. The predominating type of colony was recorded in all instances from the microscopical examination. The location of the best growth in the plate was noted as being on the bottom of the plate, in the middle of the medium or near to the surface.

Comments.

The butterfat in the medium of Sherman and Albus greatly hindered the observations necessary in this study. The medium of Bachman failed to support colony formation in the six day period in three different trials. Gompertz and Vorhaus', Rettger and Cheplin's, Hunter's, Difco's Peptonized Milk, Kulp and White's, Rettger and Kulp's, Devereux's and Kopeloff's medium supported the growth of L. acidophilus to the extent that colony formation was macroscopic within 48 hours while the others did not. Strangely, it will be seen in Table 2 that these substrata, with the exception of Rettger and Cheplin's, produced their approximate maximum

Table 2.

No.	Media	Growth			Type Colony	Position
		2 Days	4 Days	6 Days		
1	Sherman and Albus . .	P	PP	PP	XY	B
2	Bachman	N	N	N		
3	Albus and Holm	P	PP	PP	X	B
4	Gompertz and Vorhaus .	PPP	PPP	PPP	XY	SS
5	Difco	P	PP	PP	XY	B
6	Klim	P	PP	PP	XY	B
7	Kulp and Rettger . . .	N	?	PP	Y	B
8	Kulp	PP	PPP	PPP		
9	Rettger and Cheplin . .	PPP	PPPP	PPPP	X	SB
10	Hunter	PPP	PPP	PPP	X	B
11	Kulp and Rettger . . .	N	?	P	Y	B
12	Kulp and Rettger . . .	PP	PP	PP	Y	SS
13	Difco	N	?	P	X	B
14	Difco	PPP	PPP	PPP	Y	SS
15	Kulp and White	PPP	PPP	PPP	XY	SB
16	Rettger and Kulp . . .	PPP	PPP	PPP	XY	SB
17	Devereux	PPP	PPP	PPP	X	B
18	Kopeloff	PPP	PPP	PPP	XY	B

Note: S = surface, SS = subsurface, B = bottom and SB = throughout the media. X = rough predominating, Y = smooth prodeminating and XY = equal numbers of rough and smooth colonies.

growth within 48 hours. The typical woolly or rough colony predominated in the media of Albus and Holm, Rettger and Cheplin, Hunter, Difco's, Whey, and Devereux. The typical smooth colony predominated in that of Kulp and Rettger's Y, Casein digest, Klim's digest, and Difco's Peptonized milk. Equal numbeis of rough and smooth colonies appeared in all the others. Roughness of the colony, as indicated by this work, is associated with media of high protein content or a maximum of milk products. Yet, when milk constitutes only a low percentage of the medium, the tendency for smooth colonies to predominate is clearly shown in the medias of Kulp and Rettger and Difco's peptonized milk. Too, it is indicated, with but one exception, that peptone supports the rough colony formation. The maximum growth occurred at the greatest depth in the media of Sherman and Albus, Albus and Holm, Difco's Galactose Whey, Klim Digest, Kulp and Rettger's Y, and casein digest, Hunter, Difco's Whey, Devereux and Kopeloff. Strictly surface growth did not appear in any of the media. Colony formation just beneath the surface, however, was evident in the media of Gompertz and Vorhaus, Kulp and Rettger's, Klim digest, and Difco's peptonized milk. Colony distribution throughout the media appeared only in that of Rettger and Cheplin, Kulp and White, and Rettger and Kulp's Galactose Whey.

Summary.

1. The media recommended for L. acidophilus are compared.

2. There are only eight of the eighteen media that will produce macroscopical colony formation within 48 hours.

3. It is indicated that the type of colony is associated with nutritional substances present in the substratum.

4. Peptone seems to stimulate the rough type.

Acknowledgements.

The author wishes to express his appreciation to Dr. Owen for a loan of the Kopeloff culture and laboratory space, also to Dr. Rettger for cultures.

Bibliography.

1. Sherman, J. M., and Albus, W. R., The Cultivation of Certain of the Lactobacilli. (Abs. Bact. Vol. 6. 1922. p. 17.) — 2. Bachman, Freda M., A Medium for Acidophilus, Personal Communication, 1933. — 3. Albus, W. R., and Holm, George E., The Effect of Surface Tension Upon the Growth of Lactobacillus Acidophilus and Lactobacillus Bulgaricus. (Journ. Bact. Vol. 12. 1926. p. 13—18.) — 4. Gompertz, Louis M., and Vorhaus, Martin G., Observations on B. Acidophilus. (Its Bacteriological Characteristics and Possible Therapeutic Significance, Medical Record. Vol. 100. 1921. p. 497—500.) — 5. Difco Laboratories, Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents, Third Edition, 1931. — 6. Kulp, Walter L., and Rettger, Leo F., Comparative Studies of L. Acidophilus and L. Bulgaricus. (Journ. Bact. Vol. 9. 1924. p. 357.) — 7. Kulp, Walter L., and Rettger, Leo F., Medium Y. (Abs. Bact. Vol. 6. 1922. p. 24.) — 8. Kulp, Walter L., An Agar Medium for Plating L. Acidophilus and L. Bulgaricus. (Science. Vol. 66. 1927. p. 512—513.) — 9. Rettger, Leo F., and Cheplin, Harry A., The Transformation of the Intestinal flora, with Special Reference to the Implantation of Bacillus Acidophilus. Yale U. Press, 1921. — 10. Hunter, Charles A., A Preliminary Report of Media for the Cultivation of the Lactobacillus Group. (Abs. Bact. Vol. 8. 1924. p. 3.) — 11. Kulp, Walter L., and White, Vinton, A. Modified Medium for Plating L. Acidophilus. (Science. Vol. 76. 1932. p. 17—18.) — 12. Rettger, Leo F., and Kulp, Walter L., A Note on the Choice of Culture Media for the Study of the Lactobacillus, with Special Reference to the Carbohydrates employed. (Abs. Bact. Vol. 6. 1922. p. 24.) — 12. Devereux, E. D., Yeast Extract Medium for the Examination of Milk. (Amer. Journ. P. H. Vol. 22. No. 12. 1932.) — 14. Kopeloff, Nicholas, Preparation of Acidophilus Milk. (N. Y. State Hospital Quarterly. Vol. 10. 1925. p. 584—589.) — 15. Kopeloff, Nicholas, Lactobacillus Acidophilus, Williams and Wilkins Co., 1926.

A Study of Lactobacillus acidophilus and Saccharomyces cerevisiae.

II. A Simple Medium for Culturing Lactobacillus acidophilus.

By Roy L. Mobley.

Bacteriologist and Biochemist, Lacto-Yeast Co., Inc. Baton Rouge, Louisiana.

During the course of a series of investigations it was found that a simple and easily prepared medium for the cultivation of Lactobacillus acidophilus was essential. This was ascertained after having made an exhaustive study of the many media (1) already recommended for this microorganism.

Most of the media (1, 2) contained a digested material, various extracts, or required a special technique for their preparation, and in two instances

the finished media contains enough cellular debris and fat to obscure the minute colony of the organism.

The value of Yeast and beef extracts have been well established for years and one or the other was recommended for culturing Lactobacillus acidophilus by Sherman and Albus (3); Albus and Holm (4); Gompertz and Vorhaus (5); Kulp and Rettger (6, 7); Hunter (8); and Devereux (9). The use of tryptophane, a product of casein digestion, has also been recognized for some time and has been utilized indirectly to support acidophilus growth by Kulp and Rettger (6, 7, 8); Hunter (8); and Devereux (9).

The value of a high protein content for acidophilus cultivation is purely evident in Hunter's medium (8) and their buffering properties which will protect the organism against metabolic acids is well suggested in the work of Northrup (10), Rogers and Whittier (11), and most texts. As such a feature of a medium is so desirable in acidophilus cultivation, it was naturally clear that peptone might be added to accomplish this purpose. An attempt was made to develop a substratum using these ingredients and their correct amounts by experiment.

The following medium was found to support excellent colony formation in a minimum of time, to be easily prepared and used in laboratories with limited facilities.

Formula:	Bacto Peptone	10.0 Grams.
	Bacto Tryptone (Tryptophane)	10.0 Grams.
	Bacto Yeast Extract or "Lemco" (Beef Extract)	3.0 Grams.
	Lactose, Beta	10.0 Grams.
	Bacto Agar	7.5 Grams.
	Tap Water	1000.0 Ccs.

Preparation: All ingredients are added to the water and heated to a sol in the Arnold. An aliquot is titrated with 0.1/N NaOH and the quantity of 1/N NaOH calculated to adjust the pH to 6.8 is added. It is then flasked.

Sterilization: The medium is sterilized at 15 pounds for 15 minutes.

This medium was compared to the more desirable of those already recommended to support typical acidophilus growth and colony formation, using a mixture of four strains of Lactobacillus acidophilus obtained from various sources. The results are given in Table 1.

Table 1.
Comparative Tests with Other Media (1).

Medium	Growth[1])			Type Colony	Position
	2 Days	4 Days	6 Days		
Pepto-Tryptone-Extract . .	PPPP	PPPP	PPPP	XY	SB
Rettger and Cheplin's . . .	PPP	PPP	PPPP	X	SB
Hunter's	PP	PPP	PPPP	X	B
Compertz and Vorhaus . .	PP	PPP	PPPP	XY	SS
Kulp's	PP	PPP	PPP	XY	B
Kulp and White's	PP	PPP	PPP	XY	SB
Kopeloff's, R., and K. Mod.	P	PP	PPP	XY	B
Rettger and Kulp's	P	PP	PPP	XY	SB
Difco Peptonized Milk . . .	P	PP	PPP	Y	SS

[1]) P equals 50 microns; PP equals 100 microns; PPP equals 175 microns and PPPP equals 200 to 400 microns.

S means surface; SS, subsurface or the middle of the media; B, bottom and SB means throughout the media.

Summary.

A new media, Pepto-Tryptone-Extract, is reported as a result of a series of studies to find a substratum easy to prepare, adaptable to limited laboratories, and one giving good counts in a minimum of time.

The value of this media has been estimated by its ability to support a more vigorous, typical growth in a minimum of time as compared to those recommended by various authors for the cultivation of Lactobacillus acidophilus.

Bibliography.

1. Mobley, Roy L., Comparative Value of Media Recommended for Lactobacillus Acidophilus, Unpublished. — 2. Levine, Max, and Schoelein, H. W., A Compilation of Culture Media. - Baltimore, Maryland (Williams and Wilkins Co.) 1930. — 3. Sherman, J. M., and Albus, W. R., The Cultivation of Certain of the Lactobacilli. (Abs. Bact. Vol. 6. 1922. p. 17.) — 4. Albus, W. R., and Holm, George E., The Effect of Surface Tension upon the Growth of Lactobacillus Acidophilus and Lactobacillus Bulgaricus. (Journ. Bact. Vol. 12. 1926. p. 13—18.) — 5. Gompertz, Louis M., and Vorhaus, Martin G., Observations on B. Acidophilus. (Its Bacteriological Characteristics and Possible Therapeutic Significance, Medical Record. Vol. 100. 1921. p. 497—500.) — 6. Kulp, Walter L., and Rettger, Leo F., Abs. Bact. Vol. 6. 1922. p. 24.) — 7. Kulp, Walter L., and Rettger, Leo F., Comparative Study of Lactobacillus Acidophilus and Lactobacillus Bulgaricus. (Journ. Bact. Vol. 9. 1924. p. 357—394.) — 8. Hunter, Charles F., A Preliminary Report of Media for the Cultivation of the Lactobacillus Group. (Abs. Bact. Vol. 8. 1924. p. 3.) — 9. Devereux, E. D., Extract Medium for the Examination of Milk. (Journ. of P. Health. Vol. 22. No. 12. 1932.) — 10. Northrup, Zae, The Influence of Certain Acid Destroying Yeast upon Lactic Bacteria. (Michigan Exp. Sta. Tech. Bul. 15, June 1912.) — 11. Rogers, L. A., and Whittler, E. O., Limiting Factors in the Lactic Fermentation. (Journ. Bact. Vol. 16. 1928. p. 211—230.)

A Study of Lactobacillus acidophilus and Saccharomyces cerevisiae.

III. The Growth of Saccharomyces cerevisiae in Media Recommended for Lactobacillus acidophilus.

By Roy L. Mobley.

Bacteriologist and Biochemist, Lacto-Yeast Co., Inc., Baton Rouge, Louisiana.

The patenting of the product, Lacto-Yeast, by Owen (1, 2) embodying a symbiotic relationship between Lactobacillns acidophilus and Saccharomyces cerevisiae immediately established a fact heretofore not investigated: that is the adaptability of culture media recommended for culturing Lactobacillus acidophilus to Saccharomyces cerevisiae.

The necessity of having such a knowledge has warranted a study of these two organisms in these media.

The substrata utilized by various investigators have been summarized by Mobley (3) and is not included. Buchners (4) discovery of zymase gave the first step for the study of yeast nutrition. It has been shown by many workers (4, 5, 6) that yeast will utilize various partially digested pro-

teins and protein products as a source of nitrogen and carbon; that a saccharine material is probably the most utilizable source of carbon; that oxygen, in the free state, is required by most yeast; and that the magnesium and phosphate ions are essential. These ions, in a rich medium, do not necessarily have to be added to the average medium as traces are present in the various product (7) of the media. As these requirements were, at least, partially fulfilled in all of these media, their value to support the yeast in good typical colony formation was studied.

Source of the Yeast.

The organism used was obtained by plate method isolations from Fleischmanns Bakers Yeast with the use of Bacto Dextrose Agar. The isolations were mixed as to be representative of the manufacturers product and carried on dextrose agar. Fresh agar slants were inoculated each time a medium was to be tested and the culture utilized within 24 to 36 hours.

Plating method.

A dilution, approximating a cell count of 175 to 300 per cubic centimeter, was prepared from the fresh agar slants by means of sterile distilled water and the haemocytometer counting chamber. One cc of this suspension was transferred to each of six petri dishes which were then poured with 25 ccs of the medium to be tested. The plates were incubated at 34° C. for six days.

Readings were taken every 2, 4 and 6 days. The rate of growth was used as a means of determining the value of the substratum for the microorganism. The growth was observed as: P = evident; PP = fair; PPP = good; and PPPP = excellent. The position of the colony was noted as being on the surface, in the middle or on the bottom of the substratum.

Table 1.

No.	Media	Growth			Position
		2 Days	4 Days	6 Days	
1	Sherman and Albus	PPP	PPP	PPP	S
2	Bachman	N	?	P	B
3	Albus and Holm	PPP	PPP	PPP	S
4	Gompertz and Vorhaus	PPP	PPP	PPP	S
5	Difco, Galactose Whey	PPPP	PPPP	PPPP	SB
6	Klim Digest	PPPP	PPPP	PPPP	S
7	Kulp and Rettger-Y	?	PP	PP	SS
8	Kulp	PPP	PPP	PPP	SB
9	Rettger and Cheplin	PPP	PPPP	PPPP	S
10	Hunter	PPP	PPP	PPP	S
11	Kulp and Rettger Casein	?	?	P	SS
12	Kulp and Rettger Klim	PPP	PPP	PPP	S
13	Difco, Whey	PPP	PPP	PPP	SS
14	Difco, Peptonized Milk	PPP	PPP	PPP	SB
15	Kulp and White	PPPP	PPPP	PPPP	S
16	Rettger and Kulp	PP	PPP	PPP	S
17	Kopeloff	?	?	P	S
18	Devereux	PPPP	PPPP	PPPP	SB

Note: The formulae of these media are given in a previous paper.
S = surface; SS = subsurface; B = bottom and SB = throughout the media.

It will be observed by a study of the tabulated data: that four of these media will not support the growth of Saccharomyces cerevisiae; that nine will support good colony formation in 24 hours; and that four support excellent colony formation within 24 hours. Too, it seems that the growth at the 24 hour period is indicative of the final size of the colony as the maximum, based upon the age, is attained at the 48 hour period in all instances where difinite nutritional support is evident. The growth ranged mostly at the surface as would be expected by the oxygen requirement of the organism.

The failure of the media of Bachman to support the yeast may well be explained on the basis of its lack of a source of growth stimulating factors, carbon and the presence of a high ionic and molar concentration of salts. An explanation of the results attained with Kulp and Rettger-Y is lacking. It is identical with that of Albus and Holm's media which gives fair results, with the exception that 1 cc. of skim milk is substituted for the meat extract. The remaining components of the media, irrespective of the meat extract or milk, should be amply sufficient to satisfy the nutritional requirements. Too, the amount of sodium chloride present in this quantity of meat extract should not be sufficient to effect any morphological changes. The difficulty with the trypsinized casein of Kulp and Rettger may well be explained on the basis of its lack of growth stimulating effects of peptone and a minimum quantity of the necessary ions. The media of Kopeloff, too, may be explained on the basis of its minimum amount of peptone and ions. It is unique, though, that only the media of Devereux will support the growth of Saccharomyces cerevisiae as luxuriously as will Difco's Dextrose agar.

Summary.

1. The ability of the acidophilus medias to support good colony formation with Saccharomyces cerevisiae is shown.

2. Differences observed in the support of the colony are explained on the basis of nutritional requirements, and ionic and molar concentrations.

Acknowledgements.

The author wishes to express his appreciation to Dr. Wm. L. Owen for the use of his laboratory in making this study.

Bibliography.

1. Owen, William L., U. S. Patent 1,980,083, Nov. 6, 1934, Assigned to Lacto-Yeast Co., Inc. — 2. Owen, William L., British Patent 427,488, April 25, 1935. — 3. Mobley, Roy L., Comparative Value of Media Recommended for Lacto bacillus Acidophilus, Unpublished. — 4. Guilliermond, Alexandre, The Yeast, by F. W. Tanner, John Wiley and Sons, 1920. — 5. Buchanan, R. E., and Fulmer, Ellis, I. Physiology and Biochemistry of Bacteria, Vol. II, William and Wilkins Co., 1930. — 6. Fulmer, Ellis I., and Werkman, C. H., Chemical Action of Microorganisms, Charles C. Thomas Pub., 1930. — 7. Mathews, Albert P., Physiological Chemistry, Wm. Wood, 1931.

Pathologische Veränderungen („Geschwülste") im Dünndarm der Honigbiene.

[Aus der Biologischen Reichsanstalt fur Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem.]

Von Dr. **Zoltán Örösi-Pál** (Debrecen, Ungarn).

Mit 3 Abbildungen im Text.

Der Bienendarm gliedert sich in folgende Abschnitte: 1. Vorderdarm, 2. Mitteldarm, 3. Enddarm (Dunndarm und Kotblase). Über die krankhaften Veranderungen des Mitteldarmes und der Kotblase sind wir schon einigermaßen unterrichtet im Zusammenhange mit zwei Krankheitserregern: Nosema apis Zander und Melanosella mors apis Örosi. Die Krankheiten des Dunndarmes aber wurden bis jetzt kaum beachtet. Nach Fantham und Porter (1912, 1912 a) dringt der Parasit Nosema apis auch in die Dunndarmzellen ein. Trappmann (1923) teilt mit, daß Nosema apis von den Nachbarzellen des Mitteldarmes her die Dunndarmzellen befallt und sich dort von Zelle zu Zelle weiter verbreitet. Morison (1936) fand in den Zellen des vorderen Dunndarmteiles an „Bienenparalysis" erkrankter Bienen kleine kugelige, oder ellipsoide Korperchen, die nach seiner Auffassung „inclusion bodies" sind, ahnlich wie bei den Viruskrankheiten der Tiere und Pflanzen.



Abb. 1. Querschnitt des Dunndarms einer Arbeitsbiene mit einer „Geschwulst" (Orig Mikrophoto. Vergr : 50 ×.)

Meine Untersuchungen beziehen sich auf eine geschwulstahnliche Veranderung des Dunndarmes, die ich bei Winterbienen und uberwinterten alten Arbeiterinnen gefunden habe. Das genaue Alter der untersuchten Arbeiterinnen ist unbekannt. Ein Teil der Bienen wurde im Januar und Februar auf dem Bienenstand der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem (1936 und 1937), ein Teil anfangs März und anfangs April auf dem Bienenstand der Zoologischen Anstalt der Universität Debrecen in Ungarn (1936) konserviert. Als Fixierungsmittel fanden Formalin, Hasper sche Flussigkeit, Bouin sche Flussigkeit und Sublimat-Alkohol nach Apáthy Verwendung. Außer Paraffinschnittserien wurden auch Gefrierschnitte (Fixierung in Formalin, Einbettung in Gelatine) hergestellt.

Im Dünndarm der Honigbiene — wie im Bienendarm im allgemeinen — können 2 Hauptschichten unterschieden werden: innen die einreihige

Epithelschicht, außen die mehrfache Muskelschicht. Die Epithelzellen sind hoch, schmal, pallisadenartig und haben scharfe Grenzen. Ihre Höhe ist bei normalen Bienen — gegenüber der der Mitteldarmzellen — ziemlich gleichmäßig und beträgt 50—60 μ. Die Kerne sind groß, blasenartig mit wenig Chromatin und liegen in der Nähe des Grundes. Die Zellen sind nach außen von einer dünnen Basalmembran, nach deren Lumen von einer chitinösen Intima begrenzt. Der leere Dünndarm ist in seiner Länge mehrfach gefaltet, wodurch sein Querschnitt gewissermaßen sternähnlich ist.



Abb 2. Querschnitt des Dünndarms einer Arbeitsbiene mit 7 „Geschwulsten“. (Orig Mikrophoto. Vergr. 50 ×)

Die von mir beobachtete Veränderung des Dünndarmes besteht darin, daß in der Reihe der normalen gleich hohen Dünndarmzellen durch Verschmelzen stark vakuolisierter Riesenzellen geschwulstähnliche Gebilde auftreten. Diese Veränderungen sind im vorgeschrittenen Stadium auch ohne Zerlegung der Darmwand in Schnitte zu erkennen, wenn das Darmlumen mit einem dunklen Inhalt (z. B. nach Fütterung mit Ruß vermischten Honigs) gefüllt ist. Belichtet man einen solchen Dünndarm von unten stark, so kann man die Grenze der in das Darmlumen hineinragenden vergrößerten Zellengruppen mit mittlerer Vergrößerung wahrnehmen. In einigen Fällen waren die „Geschwulste“ so groß, daß die Darmwand auch nach außen ausgebuchtet war.



Abb. 3. Eine „Geschwulst“ des Dünndarms der Arbeitsbiene bei stärkerer Vergrößerung. (Orig. Mikrophoto. Vergr : 90 ×.)

Die „Geschwulste“ breiten sich nach der Längsrichtung des Dünndarmes aus, und zwar in den vorderen, mittleren und hinteren Abschnitten. Die Höchstzahl der „Geschwulste“ in einer Biene war 96. Die Höhe der mittleren „Geschwulste“ ist im Querschnitt 95 μ, die Breite 105 μ; die größeren haben eine Höhe von 165—190 μ und eine Breite von 170—280 μ, sind also etwa drei- bis fünfmal so hoch wie die normale Zellenhöhe. Die Gesamtlänge einer „Geschwulst“ kann 0,5 mm erreichen. Die Zahl der Arbeitsbienen mit „Geschwulsten“

betrug in Dahlem im Februar bei einem Bienenvolk 18 $^{0}{}_{0}$ der untersuchten Bienen.

Wie aus den Schnittserien ersichtlich ist, nehmen an der Bildung einer jeden „Geschwulst“ viele nebeneinander liegende Darmzellen teil. Im Anfangsstadium treten in den einzelnen Zellen Vakuolen auf, die sich zuerst meistens auf das äußere Ende der Zellen beschränken, d. h. auf den Zellenteil, wo der Kern liegt. Die Vakuolen treten später in Zahl und Ausdehnung immer größer auf; die Zellengröße nimmt besonders in der Längsrichtung stark zu. Die Grenzen der Nachbarzellen verschwinden nach und nach und die vakuolisierten Riesenzellen bilden einen einheitlichen, mit feinen Plasmaresten durchwobenen, geschwulstartigen Körper. Die unveränderten Zellreste bleiben teils an den Grenzen der „Geschwulst“ erhalten, teils aber verschwinden sie auch an der äußeren Seite, so daß dann die äußere Grenze nur von der dünnen Basalmembran gebildet wird. Die Kerne bleiben in vielen Fällen erhalten, und zwar meistens an der Basis; ihre Gestalt, Größe, Färbbarkeit und Struktur weisen im allgemeinen keine Veränderungen auf. In manchen Fällen konnte aber festgestellt werden, daß sie eine unregelmäßige, dreieckige oder pfeilspitzenähnliche Gestalt und eine kompakte, sich gleichmäßig stark färbende Struktur besaßen. Einige Kerne sind in den Vakuolen gefunden worden. Die feinen Plasmastränge im Inneren der „Geschwülste“ sind mit Plasma- und Kernfarbstoffen schlecht färbbar. Es gibt auch solche „Geschwülste“, bei denen die Plasmastränge schon vollkommen zugrunde gegangen sind. Die chemische Natur des Vakuoleninhaltes konnte bis jetzt nicht ermittelt werden.

Die Ursache der Geschwulstbildung und ihre Rolle im Bienenleben bleiben weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Zusammenfassung.

Es wird über geschwulstähnliche, durch Verschmelzen stark vakuolisierter Riesenzellen entstehende Gebilde berichtet, die in den Dünndärmen der winternden und überwinterten Arbeitsbienen vorkommen.

Literatur.

Fantham, H. B. und Porter, Annie, Microsporidiosis, a protozoal disease of bees due to Nosema apis, and popularly known as Isle of Wight disease. (Annal. Tropic. Med. Parasitol. Vol. 6. 1912. p. 145—161.) — Fantham, H. B., and Porter, Annie, The morphology and life history of Nosema apis and the significance of its various stages in the so-called „Isle of Wight“ disease in bees (Microsporidiosis). (Annal. Tropic. Med. Parasitol. Vol. 6. 1912a. p. 163—195.) — Trappmann, W., Morphologie und Entwicklungsgeschichte von Nosema apis Zander. (Arch. f. Bienenkde. Bd. 5. 1923. S. 221—234.) — Ohne Namen, Diseases of bees. (Sitzungsbericht.) (The Bee World. Vol. 17. 1936. p. 121—122; uber Morison: p. 122.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Müller, K., 15. Jahresbericht des Badischen Weinbau-Instituts für das Jahr 1935. Freiburg 1936. Badisches Weinbauinstitut. 101 S.

Auf S. 9—20 werden Untersuchungen über Rebschädlingsbekämpfung mitgeteilt. Nach Angaben über Witterung, Krankheiten und Schäden, sowie Mitteilungen über die Brauchbarkeitsprüfung von Rebschädlingsmitteln wird über die Schädlingsbekämpfungsvorhersage berichtet, wie sie vom Institut aus den Winzern mitgeteilt wurde. Wer sich daran hielt, konnte gesunde Trauben ernten. Bei Versuchen mit verschiedenen Mengen Kalkarsenat je hl Spritzbrühe ergab sich, daß man nicht unter 400 g Kalkarsenat je hl Spritzbrühe heruntergehen darf, wenn man einen genügenden Erfolg erzielen will. Andere Versuche zeigten, daß man zweckmäßig die Heuwurmbekämpfung mit Arsenmitteln, die Sandwurmbekämpfung mit Nikotin- oder Pyrethrum-Mitteln durchführt. Durch Impfversuche wurde die Behauptung widerlegt, daß die Peronospora auf der Blattoberseite hervorbreche, wenn man die Blätter nach der Infektion umdrehe. Ein weiterer Versuch zeigte, daß Kohlenstaub praktisch zur Peronospora-Bekämpfung nicht in Frage kommen kann, wenn schon die Infektion dadurch verringert wird. Untersuchungen über die Chlorose der Reben wurden in Lauda im dortigen Institutsweinberg durchgeführt und die Bodenreaktion der Chlorosestellen und der chlorosefreien Stellen festgestellt, dabei ergab sich in den ausgeprochenen Gelbsuchtstellen der Weinberge eine Bodenreaktion von 8,1—8,2 pH. Die Versuche über die Reisigkrankheit der Reben wurden fortgesetzt und Pfropfungen hergestellt, teils mit kranker Unterlage, teils mit krankem Edelreis. Der Anfall an brauchbaren Pfropfreben zeigte, daß bei Verwendung typisch reisigkranker Edelreiser eine Senkung des Prozentsatzes an brauchbaren Pfropfreben eintritt. Bei Verwendung reisigkranker Unterlagshölzer, aber gesundem Edelreis, tritt ebenfalls eine Senkung der brauchbaren Pfropfreben ein. Die Stäbchenbildung in den Holzzellen wird von der kranken Unterlage auf das gesunde Edelreis übertragen, wenig dagegen von krankem Edelreis auf gesunde Unterlage. Um die Zahl der Stäbchen in den Holzzellen genauer angeben zu können, wurden anatomische Untersuchungen angestellt, um eine exakte quantitative Methode der Stäbchenzählung auszuarbeiten, die die Stäbchenzahl auf Flächeneinheit angibt. Mit Hilfe dieser Zählmethode soll mehrere Jahre hindurch geprüft werden, ob die Zahl der Stäbchen relativ konstant bleibt und ob sie überhaupt für die Beurteilung des Krankheitsbildes eine brauchbare Grundlage bilden. Die Versuche und Untersuchungen sind z. T. gemeinsam mit Müller-Stoll durchgeführt.

K. Müller (Freiburg).

Mededeelingen van het Besoekisch Proefstation. No. 55 (1936). Jaarverslag over Juli 1935 tot en met Juni 1936. (Jahresübersicht Tabak 1935/1936.)

Der Direktor der Versuchsstation gibt eine Übersicht über die im obengenannten Jahre aufgetretenen Krankheiten des Tabaks. Erwähnt werden u. a. einige Viruskrankheiten. Mosaik wurde häufig angetroffen mit einem Ernteverlust bis zu 70%. „Kroepoek“ und „Krekoh“- (Runzel- und Kräusel-) krankheit, übertragen durch gewisse Schildläuse (Aleurodidae), waren vorwiegend auf an Wegrändern stehenden Unkräutern, von wo aus die Ansteckung der Tabakpflanzen stattfindet.

Von den Pilzkrankheiten kommt hauptsächlich die Phytophthora-Krankheit in Frage, die durch Ausmerzen der befallenen Pflanzen und Desinfizierung des Bodens erfolgreich bekämpft wurde.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Jahresbericht über die Fortschritte in der Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel sowie Gebrauchsgegenstände. Bericht über 1935. 45. Jahrg. Göttingen (Vandenhoeck & Ruprecht) 1936. 89 S. RM. 8.

Der außerordentlich reichhaltige Jahresbericht bringt in kurzer Form die neuen Verfahren und Bestimmungsmethoden zur Prüfung der Güte und

Reinheit von Nahrungs- und Genußmitteln sowie von verschiedenen Gebrauchsgegenständen, Seifen, Kraftfahrstoffen usw. Ein besonderes Kapitel ist der toxikologischen und forensischen Chemie gewidmet. Ferner enthält der Bericht die im Jahre 1935 erschienenen Gesetze und Verordnungen sowie einschlägige Literatur.

Eine Menge neuer chemischer Prufungsmethoden werden beschrieben; auch für den Bakteriologen sind einige interessante Daten enthalten. Es handelt sich um bakteriologische Untersuchungen an Käse und Margarine, Salzgurken und Kakaobohnen sowie um Studien über Bacillus typhosus und Escherichia coli in Abwässern.

Bärner (Berlin-Dahlem).

Allgemeines und Methodisches.

Loele, W., Über den Einfluß von Aminosäuren auf Nährböden und Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1935. S. 386—391.)

Bei Gegenwart von Hydroxylionen spalten Phenole, Wasserstoffsuperoxyd, Glykoside, manche Farbstoffe (z. T. erst unter dem Einfluß des Lichtes) und Alkaloide aus Aminosäuren Dämpfe ab, die rotes Lackmuspapier bläuen und Neßlers Reagens bräunen (NH_3). Es handelt sich hierbei um einen Oxydationsvorgang infolge Sauerstoffaktivierung. Die Karboxylgruppe der Aminosäure und CO_2 werden intermediär zu Aldehyd reduziert. Die Abspaltung von NH_3 aus Aminen, stickstoffhaltigen Phenolen und basischen Farbstoffen durch Lauge wird durch Zusatz von Aminosäuren unterdrückt. Die Wirkung der Phenole auf Aminosäuren wird nicht aufgehoben.

Die Reaktionen haben Einfluß auf die Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens (Sauerwerden), Pigmentbildung (wenn zwischen Farbstoff und Aminosäure ein Gleichgewicht besteht, z. B. bei Bact. prodigiosum), Verschleimung (Aminosäuren hemmen die Verschleimung von Eiweiß durch Alkali, Phenole setzen sie wieder in Gang), CO_2-Assimilation, Strukturbildung und Immunität. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Wentzel, H., Desinfektionsmittel der Phenolreihe. (Chemiker-Zeitg. Bd. 61. 1937. S. 207—208.)

Bei der Bestimmung des Phenolkoeffizienten ist zu beachten, daß die verschiedenen desinfizierenden Stoffe sich einzelnen Parasiten gegenüber oft recht unterschiedlich verhalten. Man kann deshalb den Wert eines Desinfektionsmittels nicht beurteilen durch Prüfung seines Verhaltens nur einer Keimart — beispielsweise Hefe — gegenüber. Außer der Untersuchung auf das Verhalten gegenüber einer möglichst großen Anzahl von Parasiten ist auch die Prüfung der Verdünnbarkeit und Haltbarkeit der Mittel wichtig.

Bei der Phenolreihe vermindert Kernalkylierung die physiologische Wirksamkeit mit Ausnahme der antiseptischen Wirksamkeit, die erhöht wird. Das gleiche gilt für die Halogenierung. Für die Alkylierung gilt ferner, daß die bakterizide Wirksamkeit mit steigender Kohlenstoffzahl der Seitenkette bis zu einer gewissen Höchstzahl der C-Atome zunimmt, um dann bei weiter steigender Kohlenstoffzahl wieder zu fallen. Mit zunehmender Zahl der Halogenatome steigt die antiseptische Wirksamkeit gleichfalls, dabei erhöht sie Brom mehr als Chlor und Jod mehr als Brom. Verätherung des Phenols verringert in den meisten Fällen die antiseptische Kraft. Bei Alkylphenolen ist für die Wirksamkeit allein die Zahl der C-Atome maßgebend ohne Rück-

sicht darauf, ob diese in einer oder mehreren Seitenketten in den Kern eingeführt sind. Diese hochwirksamen Stoffe haben sich nur teilweise in der Praxis eingeführt, weil sie zum Teil unlöslich sind, zum Teil einen außerordentlich starken Geruch besitzen. Die Halogenderivate eignen sich mehr für die technische Desinfektion, z. B. für die Schädlingsbekämpfung — die noch viel zu viel Kupfer, Quecksilber und Arsen verbraucht — während die reinen Alkylphenole mehr in der Medizin zur Anwendung kommen.

Heuß (Berlin).

Gottsacker, E., Über Trioform-Desinfektionsmittel. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 116. 1936. S. 88—93.)

Die beiden Trioform-Präparate „Goldsiegel" und „Standard" wurden an 11 Testkeimen im Suspensionsversuch geprüft. Hierbei konnte in den meisten Fällen eine deutliche, z. T. sogar beträchtliche Überlegenheit über Sagrotan festgestellt werden. „Goldsiegel" zeigte bei Bact. coli und Staphylokokken nicht immer gleichmäßige Wirkung, während „Standard" zuweilen gegenüber Bact. coli schwankende Werte ergab.

Wie gezeigt wird, ist es von Wichtigkeit, zur Wertbestimmung eines Desinfektionsmittels möglichst viele Keime heranzuziehen. Um die Gesamtbewertung eines Desinfiziens genau zahlenmäßig festlegen zu können, wird die Errechnung des mittleren Koeffizienten, des arithmetischen Mittels aus den verschiedenen Phenolkoeffizienten, empfohlen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hornung, H., Zephirol, ein neues Desinfektionsmittel. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 62. 1936. S. 1006—1007.)

Zephirol kommt hinsichtlich Desinfektionskraft, Geruchlosigkeit und Ungiftigkeit dem idealen Desinfektionsmittel näher als die bisher gebräuchlichen Mittel. Es ist selbst dem Sublimat überlegen, vor allem durch seine Wirkung auf Sporen. Lediglich Tuberkelbakterien erwiesen sich Zephirol gegenüber als sehr widerstandsfähig.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Andrucci, M., Contrôle de la méthode de Pauli pour la conservation des souches bactériennes. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 8. 1936. p. 225—229.)

Verschiedene pathogene und nichtpathogene Bakterienkulturen der Institutssammlung wurden nach Pauli in inaktiviertem und eingetrocknetem Kaninchenserum und zum Vergleich hierzu auch in ebenso behandeltem entfibrinierten Blut in zugeschmolzenen Ampullen bis zu 4 Jahren aufbewahrt. Die Untersuchungsergebnisse hinsichtlich der Erhaltung der Lebensfähigkeit sowie der morphologischen und physiologischen Eigenschaften der verschiedenen Stämme ist dahin zusammenzufassen, daß sich Blut allgemein etwas geeigneter erwiesen hat als Serum, und daß solche Bakterien, die bezüglich Zusammensetzung und Konstanz des Nährbodens weniger anspruchsvoll sind, sich in der beschriebenen Weise auch leichter erhalten lassen. Für die saprophytischen Bakterien landwirtschaftlich mikrobiologischer Laboratorien müßte sich aber nach Ansicht des Ref. ein geeigneteres Verfahren finden lassen, um die allerdings großen Ersparnisse an Material und Zeit zu erreichen. Bortels (Berlin-Dahlem).

Mündel, O., Händedesinfektion durch Esbeseife. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1935. S. 364—370.)

Durch mechanische Reinigung der Hände mit Seife und Bürste lassen

sich die an den Handen haftenden Keime bis auf etwa die Hälfte reduzieren. Durch Waschen mit Alkohol oder Esbeseife (6 Min.) wird eine fast vollige Keimfreiheit erzielt, gleichgultig, ob mechanische Reinigung vorausgeht oder nicht, nur tritt bei ausschließlicher Alkoholanwendung keine Reinigung ein.

Im Reagenzglasversuch mit pathogenen Keimen zeigte Esbeseife stark keimtotende Eigenschaften. Hautschadigungen traten auch bei jahrelangem Gebrauch nicht auf. Rodenkirchen (Konigsberg i. Pr.).

Münch, H., Vorläufige Mitteilung uber die Herstellung fester, agarfreier Nahrboden durch Verwendung von kolloidaler Kieselsäure. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 117. 1936. S. 129.)

Die Kieselsäure wird in dem vom Verf. benutzten Verfahren nur als gelierendes Agens zur Bereitung der ublichen festen Nahrboden anstelle von Agar verwendet. Durch dosierten Zusatz von Saure bis zum optimalen Wachstums-p_H wird die Kieselsäure aus ihren Natriumsalzen freigemacht, so daß die ubliche phosphatgepufferte Nahrbruhe geliert. Es wird so mit den einfachsten Mitteln ein Nährboden hergestellt, auf dem die hauptsächlichsten Bakterienarten nach den bisherigen Prufungen Verf.s ein zufriedenstellendes Wachstum zeigen. Die Verbilligung und Vereinfachung der Darstellung von Nahrboden fallt bei Massenuntersuchungen ganz besonders ins Gewicht. Rodenkirchen (Konigsberg i. Pr.).

Gorini, C., Die Methode „Milch-auf-Agarkultur" zur Untersuchung der chymasischen und proteasischen Wirksamkeit der Mikroorganismen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1935. S. 275—287.)

115 pathogene Streptokokkenstämme verschiedener Herkunft, die bei Verimpfung in Milch keine oder eine unregelmäßige Wirkung gezeigt hatten, erwiesen sich sämtlich und konstant in den „Milch-auf-Agarkulturen" chymasisch wirksam. Es sind mithin sämtliche Streptokokken fähig, Milch zur Gerinnung zu bringen, nur ist der Mechanismus ein verschiedener je nach dem Grad der saccharolytischen Aktivität.

Die Milch-auf-Agarkultur soll auch geeignet sein zur Trennung des fur Menschen apathogenen Erregers der chronischen Mastitis (Strept. agalactiae) von dem auch fur Menschen virulenten Erreger der akuten Mastitiden (Strept. pyogenes). Strept. agalactiae bildet ein weiches, schwach saures Gerinnsel (unter 3‰ Milchsäure), wirkt aber nicht verdauend; Strept. pyogenes läßt ein weiches, schwach saures Gerinnsel (unter 3‰ Milchsäure) entstehen, das verdaut wird. Bei Einsaat in Milch sind diese Unterschiede schwer feststellbar.

Rodenkirchen (Konigsberg i. Pr.).

Henneberg, W., Untersuchung der Darmflora des Menschen mittels der Deckglasagarmethode. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. S. 36—49.)

Die Untersuchung der Fäces erfolgt in der Weise, daß auf Würzeagar, Milchzuckerbouillonagar und verdünntem Bouillonagar Fäces mit der Öse ausgestrichen und an der dichtesten sowie dünnsten Stelle mit einem sterilen Deckglas bedeckt werden. Nach 24stündiger Bebrütung bei 37° kann mikroskopische Beobachtung erfolgen. Aerobe Bakterien zehren den Sauerstoff und lassen Anaerobier (z. B. Bact. bifidum, B. innutris, Gra-

nulobacter, Zellulosebazillen) aufkommen. Die Kulturen wachsen unter dem Deckglas meistens in einer Ebene. Zeichnungen und Mikrophotographien gelingen deshalb gut. Mittels der beschriebenen Methoden laßt sich gut die Umstellung der Darmflora infolge Genusses von Reinkulturen oder bestimmter Nahrungsmittel verfolgen. Meewes (Kiel).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Giesberger, G., Beiträge zur Kenntnis der Gattung Spirillum Ehbg. Mit besonderer Berucksichtigung der Atmungsprozesse bei den Vertretern dieser Gattung. (Dissertation. Delft 1936.)

Jeder Bakteriologe, der einmal die schon geformten, lebhaft beweglichen, großen und kleinen Spirillen gesehen hat, die sich gewohnlich in großer Zahl in Schweinejauche aufhalten, hat sicher schon den Wunsch gehabt und es vielleicht auch schon versucht, diese Mikroorganismen reinzuzuchten. Aber fast ebenso sicher ist es auch, daß solche Versuche erfolglos geblieben sind. Deshalb ist es in hohem Maße zu begrußen, daß sich Verf. der schweren Aufgabe unterzogen hat, zu den wenigen bisher bekannten Tatsachen und Erfahrungen auf dem Gebiete der Spirillenforschung weitere sehr wesentliche hinzuzufugen. Wenn damit das Spirillenproblem in seiner Gesamtheit auch noch nicht gelost ist, vielmehr noch manche Frage offen bleibt, und Reinzüchtungen und das Arbeiten mit Reinkulturen noch immer schwierig sein durften, so ist es Verf. doch gelungen, etwa 60 Reinkulturen zu gewinnen, die er 5 Arten zuteilt. Dabei war die Isolierung der Formen aus Oberflächenwasser wesentlich leichter als diejenige der Mistspirillen. Alle Kulturen erwiesen sich als chemo-heterotroph, mehr oder weniger aerob und zeigten bestes Wachstum bei etwa 35° C und neutraler bis alkalischer Reaktion. Nur eine der isolierten Arten war imstande, auch aerob zu wachsen, wenn Nitrat geboten wurde. Dieses diente dann jedoch nur als Sauerstoffquelle, während als Stickstoffquelle gleichzeitig ein Ammonsalz oder eine brauchbare organische Stickstoffverbindung zugegen sein mußte. Nitrat war fur keine Kultur als Stickstoffquelle verwertbar. Als Kohlenstoffquellen kamen vor allem Salze organischer Säuren in Betracht. Für das aus Jauche isolierte Spirillum Kutscheri waren jedoch nur Salze der Brenztraubensäure und Malate einigermaßen verwertbar. Ausschlaggebend für das Gelingen der Kulturen war auch das Vorhandensein ausreichender Mengen Kalzium, wobei Verf. in erster Linie an den Kalzium-Magnesium-Antagonismus denkt.

Ausgedehnte Untersuchungen mit der Warburgschen Apparatur uber die respiratorischen Verhaltnisse bei Spirillen fuhrten zum Ergebnis, daß die Atmung nicht getrennt von jeglicher Assimilation untersucht werden kann. Es findet immer trotz stickstofffreien Substrats gleichzeitig eine beträchtliche Assimilation statt, die u. a. auch durch Anreicherung der Zellen mit Volutin nachgewiesen wurde. Der beobachtete respiratorische Koeffizient CO_2/O_2, der kleiner ist, als bei reiner Atmung erwartet werden müßte, wird auf „Späneatmung" zuruckgefuhrt, d. h. auf Bildung von Kohlensäure im Verlauf einer sich unter Sauerstoffaufnahme vollziehenden Assimilation. Ob daneben noch eine reine Atmung, d. h. Verbrennung des Substrats bis zu Kohlensäure und Wasser stattfindet, konnte nicht entschieden werden, weil eine Trennung beider Vorgänge nicht moglich war. Bortels (Berlin-Dahlem).

Hosoya, S., Kuwashima, Y., Kayo, S., Oda, M., Kagabe, K., On the isolation of the growth factor of pathogenic bacteria. (Proc. Imp. Acad. Tokyo. Vol. 12. 12. 1936. p. 67—69.)

Aus 5 kg sirupförmigem wäßrigen Fischextrakt wurden nach Extraktion mit verd. Essigsäure in einem umfangreichen Trennungsgang 0,5 g eines nicht hygroskopischen, grauweißen kristallinischen Stoffes isoliert, der auf das Wachstum von Staph. aureus und B. botulinus in verschiedenen organischen Nährmedien stark fördernd wirkte. Die geringste wirksame Dosis war fur Staph. aureus 0,00002 γ pro 5 ccm und für den B. botulinus 0,000005 γ pro 10 ccm Nährmedium. Aus der Mutterlauge der weißen Kristalle wurden noch zwei andere Stoffe isoliert, von denen der eine auf B. botulinus, der andere auf den Staphylokokkus anregend wirkte. C. R. Baier (Kiel).

Wood, H. G., Tatum, E. L. and Peterson, W. H., Growth factors for bacteria. IV. An acidic ether-soluble factor essential for growth of propionic acid bacteria. (Journ. of Bact. Vol. 33. 1937. p. 227—242.)

Die Tatsache, daß manche Bakterien, zu denen auch die Propionsäurebakterien gehören, nur bei Gegenwart von Stoffen komplexer und unkontrollierbarer Zusammensetzung wie Hefeextrakt gut gedeihen, hat bisher einer genaueren Erforschung des Stoffwechsels dieser Bakterien hindernd im Wege gestanden. Verff. haben deshalb versucht, die eigentlichen Wirkstoffe möglichst zu isolieren, um sie dann den synthetischen Nährlösungen zusetzen zu können. Auch bei den Propionsäurebakterien ist ihnen das weitgehend gelungen. Der Wachstumsfaktor ist eine nichtflüchtige, ätherlösliche organische Säure, die in allen das Wachstum der Propionsäurebakterien fördernden Hefe-, Pflanzen- und Leberextrakten enthalten ist. Sie konnte durch einige bekannte Vitamine, Hormone und vitamin- und hormonähnliche Stoffe nicht ersetzt werden. Bortels (Berlin-Dahlem).

Snell, E. E., Tatum, E. L., and Peterson, W. H., Growth factors for bacteria. III. Some nutritive requirements of Lactobacillus Delbrückii. (Journ. of Bact. Vol. 33. 1937. p. 207—225.)

Ein wässeriger Auszug von Kartoffeln wirkt in synthetischen Nährlösungen fördernd auf Wachstum und Säurebildung einer Reihe von Milchsäurebakterien. Dieser Extrakt wirkte besonders deutlich auf Lactobacillus Delbrückii. Abgesehen davon, daß für dieses Bakterium Tryptophan lebensnotwendig ist, das mit Pepton gegeben wird, sind für ein besonders üppiges Wachstum mindestens noch zwei weitere Faktoren unentbehrlich. Der eine derselben dürfte eine organische Säure von niedrigem Molekulargewicht sein, die in dem Kartoffelextrakt enthalten ist, während der andere als ein Bestandteil des Peptons basischen Charakter hat. Beide werden durch langdauernde Säurehydrolyse zerstört. Leberextrakt enthält entweder dieselben Wirkstoffe oder solche, die die erwähnten des Kartoffelextraktes ersetzen können. Vitamin B_2 ist jedoch nicht hieran beteiligt. Bortels (Berlin-Dahlem).

Unger, A., Sind bei der Sporulation Vorgänge im Kernsystem vorhanden? (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 116. 1936. S. 94—96.)

Es wurde die Frage zu klären versucht, ob bei der Sporenbildung erworbene und lange festgehaltene Eigenschaften verlorengehen, wie das bei Protozoen vorkommt infolge Umlagerung und Selbstbefruchtung in den Zysten. Das Ergebnis war, daß die Dauermodifikationen auch über die Sporenbildung hinaus bestehen blieben.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Ivánovics, G. und Erdös, L., Ein Beitrag zum Wesen der Kapselsubstanz des Milzbrandbazillus. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 90. 1937. S. 5—19.)

Das in der Kapsel des Milzbrandbazillus vorhandene Hapten erwies sich als ein im Bereiche der sporenhaltigen aeroben Bazillen häufig vorkommender Stoff, dessen chemische Struktur von den bisher bekannten Bakterienhaptenen abwich. Es handelte sich um eine Substanz von stark säureartigem Charakter (in 0,5 proz. Lösung färbte sie Kongopapier blau), die weder zu den Proteinen noch zu den Kohlehydraten Beziehungen aufwies.

Das Hapten der Milzbrandbazillenkapsel verlor bei der Hydrolyse mit Säuren oder Laugen seine serologische Aktivität. Parallel zu der infolge der Hydrolyse entstandenen Verminderung der serologischen Aktivität verlief die Zunahme des frei gewordenen Aminostickstoffs.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Prica, M., Über die Frage der antibakteriellen Speichelwirkung auf die kapseltragenden Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 119. 1937. S. 306—321.)

Frischer und aktiver Speichel übte in vitro zwar keinen hemmenden und antibakteriellen Einfluß aus auf Kapselbakterien (Bact. rhinoscleromatis, pneumoniae, ozaenae), weder bei Zimmertemperatur noch bei Körpertemperatur, führte jedoch bei allen 3 Bakterienarten zur Entstehung einer konstanten, kapsellosen Variante.

Auf 20-, 30-, 40- und 50proz. Frischspeichel-Agarplatten wurde das Wachstum und die Kolonieentwicklung von Kapselbakterien stark gehemmt. Erhitzter oder durch Seitz-E.K.-Schichten filtrierter Speichel war völlig wirkungslos. Ein kleiner Zusatz von frischem Speichel verlieh dem inaktivierten Speichel wieder fast volle Wirksamkeit. Die antibakterielle Wirkung ließ sich weiterhin beseitigen durch Zentrifugieren (das Sediment behielt seine volle Wirkung), durch Zugabe von Carbo animalis mit nachfolgender Filtration durch Papierfilter sowie durch längeres Stehenlassen des Speichels bei Zimmertemperatur oder im Kühlschrank. Cellophan vermochte den Hemmungsstoff nicht zurückzuhalten.

Die hemmende und antibakterielle Wirkung des frischen Speichels scheint — wenigstens den Kapselbakterien gegenüber — im wesentlichen durch die antagonistische Wirkung der Speichelbakterien bedingt zu sein. Die von Dold angenommene antibakterielle Substanz, das Inhibin, dürfte keine besondere Rolle spielen, zum mindesten scheint sie nur im Verein mit Speichelbakterien wirken zu können.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Sherman, J. M., and Wing, H. U., Streptococcus durans n. sp. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 20. 1937. p. 165—167.)

Verff. schlagen vor, ihren vor 2 Jahren aus Milchpulver isolierten Streptococcus homothermophilus in Streptococcus durans umzubenennen. Dieser Name scheint wesentlich geeigneter, insbesondere wegen seiner außerordentlichen Resistenz gegenüber Erhitzung und Austrocknung. Irgendwelche nähere Beziehungen zum Streptococcus thermophilus bestehen nicht, dagegen sehr wohl zu der „Enterococcus-Gruppe" (Strept. fecalis). Damit stimmt auch seine Resistenz gegenüber Natriumchlorid und alkalischer Reaktion, desgleichen sein Wachstum in Methylenblaumilch mit einer Konzentration des Farbstoffes von

1 : 1000 überein. Im übrigen ist von den Verff. eine vollständig neue Beschreibung dieses Organismus gegeben worden.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Schmidt, H., Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Streptokokken und der Eigenschaften des Antistreptokokkenserums. I. Die Fibrinolyse der Streptokokken. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 87. 1936. S. 1—8.)

Die Beobachtung, daß Streptokokken das Fibrin aus Menschenplasma lösen können, wird bestätigt. Das lytische Agens war in der Kulturflüssigkeit enthalten, die abzentrifugierten und gewaschenen Streptokokken gaben keine Fibrinolyse, wohl aber das keimfreie Filtrat. Die lösende Fähigkeit war praktisch bei allen hämolytischen Streptokokken Menschenfibrin gegenüber vorhanden, wenn auch in recht verschiedener Stärke. Vereinzelt lösten aus tierischen Krankheitsprozessen gewonnene hämolytische Streptokokken menschliches Fibrin, weniger gut das Fibrin von Pferden und Rindern. Umgekehrt vermochten humane hämolytische Streptokokken nur selten tierisches Fibrin zu lösen.

II. Die Hemmung der Fibrinolyse durch Antistreptokokkenserum. (S. 9—16.)

Die antilytische Fähigkeit wird von Pferden durch Immunisierung erworben.

III. Das Streptokokkenhämotoxin. (Schlüter, W. und Schmidt, H. S. 9—16.)

Die Angaben von J. Weld, daß durch Waschen hämolytischer Streptokokken mit Serum ein kräftiges Hämotoxin gewonnen werden kann, bestehen zu Recht. Am geeignetsten erwies sich reines Serum ohne konservierenden Zusatz. Andere Flüssigkeiten scheinen das Gift zwar auch extrahieren, aber nicht konservieren zu können. Deshalb auch Abnahme der Ausbeute mit steigender Verdünnung des Serums. Im übrigen konnte mit einer bestimmten Serummenge aus einer gegebenen Streptokokkenmenge nur ein bestimmter Anteil des Hämotoxins gewonnen werden. Zur Erhaltung des Toxins erwies sich leicht alkalische Reaktion (p_H 8) zweckmäßig. Erhitzen war ohne Einfluß auf die Extraktion.

Das keimfreie Hämotoxin tötete weiße Mäuse unter dem Bilde schwerster Blutzerstörung (Hämoglobinurie), bewirkte subkutan bei Meerschweinchen Nekrose und war, in größeren Dosen, intravenös auch für Kaninchen tödlich.

Das Hämotoxinbildungsvermögen war bei den einzelnen Stämmen sehr verschieden und ging nicht parallel mit der Infektiosität der Stämme, wohl aber mit der Hämolyse der Kulturfiltrate gegenüber Kaninchenblutzellen. Gute Hämolysinbildner scheinen auch stets gute Hämotoxinbildner zu sein, was aber noch keineswegs berechtigt, die Identität dieser beiden Stoffe anzunehmen.

IV. Über die Artspezifität der Streptokokkenfibrinolyse. (S. 177—184.)

Prinzipiell können wohl auch Streptokokken aus tierischen Krankheitsprozessen (Druse) menschliches Fibrin lösen und umgekehrt, doch sind dazu meist ganz erhebliche Fibrinolysin-Mengen erforderlich. Es besteht also ein weitgehender Unterschied zwischen tierischen und menschlichen Streptokokken, allein schon dadurch, daß die Fibrinolyse bei tierischen Streptokokken überhaupt im ganzen geringer ausgeprägt ist.

V. Antigene Eigenschaften des Streptokokkenfibrinolysins. (S. 268—279.)

Das Fibrinolysin besitzt antigene Eigenschaften, wofür eine Reihe von Gründen angeführt werden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Sartorius, F., Zur Frage der Beziehungen zwischen Virulenz und Fibrinolysevermögen menschenpathogener Streptokokken. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 88. 1936. S. 381—396.)

Die Ergebnisse sprechen gegen einen unmittelbaren Zusammenhang zwischen Fibrinolyse und Virulenzgrad. Bei den experimentellen Virulenz-

versuchen an Mäusen konnte sogar beobachtet werden, daß die negativ fibrinolytischen Stämme, insgesamt betrachtet, weitaus virulenter wirkten als die stark fibrinolytischen Stämme.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kiuchi, H., Serologische Untersuchungen an Mundstreptokokken. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 89. 1936. S. 535—540.)

Aus dem Speichel von 12 gesunden Personen wurden 76 Stämme einer Art von Streptokokken isoliert. Sie ließen sich agglutinatorisch in 13 Typen einteilen, von denen 4 mit den 4 Typen von Endo völlig identisch waren. Kulturell bestand eine gewisse Ähnlichkeit mit Strept. viridans, von dem sie aber agglutinatorisch abwichen. Auch zu Enterokokken und Milchstreptokokken bestanden agglutinatorisch keine Beziehungen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kondo, N., Über die serologische Einteilung von Streptococcus viridans. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 90. 1937. S. 58—64.)

56 Strept. viridans-Stämme wurden in 24 Typen eingeteilt, die außer unspezifischen noch eigene spezifische Rezeptoren enthielten. Mit diesen Seren scheinen aber noch nicht alle echten Viridansstämme erfaßbar zu sein. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Aoki, D., Immunisatorische Untersuchung einer Art von Enterokokken, isoliert aus verschiedenen Eiterherden. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 90. 1937. S. 37—42.)

Aus 17 Eiterherden wurden 48 Stämme isoliert, die sich morphologisch und biologisch in 2 Gruppen aufteilen ließen. Die Stämme der 1. Gruppe waren weiter in 7 serologische Typen trennbar, diejenigen der 2. Gruppe in 2 serologische Typen mit eigenen spezifischen Rezeptoren. Die Stämme der 2. Gruppe waren scheinbar sämtlich Enterokokken.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Bachmann, W. und **Gregor, H.**, Kulturelle und immunbiologische Differenzierung von Stämmen der Gruppe „Fusobakterium". (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 87. 1936. S. 238—251.)

Unter Anwendung des von Bachmann auf die Plattenkultur übertragenen anaeroben Pyrogallol-Sodaverfahrens nach Ritter und Dorner gelang die Züchtung von 20 Stämmen, von denen 9 genauer untersucht wurden mit dem Ergebnis, daß sie, frisch herausgezüchtet, nach 48 stünd. Wachstum in 2 Gruppen eingeteilt werden konnten: in 1. großwüchsige (aus pathologischen Prozessen stammend) und 2. kleinwüchsige (aus der normalen Mundhöhlenschleimhaut bzw. von kariösen Zähnen isoliert). Die großwüchsigen Stämme ließen sich weiter in geruchsbildende und geruchlos wachsende Typen trennen. Bei Fortzüchtung der verschiedenen Typen ergab sich, daß vor allem die klein- und langsamwüchsigen Stämme nach der 6.—8. Passage auch aerob angingen, wenn dafür gesorgt wurde, daß die Kulturen durch Plastilinring vor Austrocknung geschützt waren.

Der Versuch einer immunbiologischen Differenzierung im Agglutinationsversuch und mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion bestätigte die Berechtigung der Typeneinteilung in der oben angegebenen Weise.

Spirochätenformen, die in fusiformen Kolonien beobachtet wurden, werden auf die Neigung dieser Stämme zur Fadenbildung zurückgeführt. Eine Beziehung zu echten Spirochäten wird für unwahrscheinlich gehalten.

Für Mäuse waren sämtliche untersuchten Stämme apathogen, ein großwüchsiger Stamm verursachte aber im Intrakutanversuch beim Meerschweinchen eine Hautnekrose. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Johnson, F. H., Oxydation of Carbohydrates and Polyhydric Alcohols by Luminous Bacteria. (Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. Vol. 32. 1935. p. 1263—1265.)

Es wurde im Warburg-Respirometer der Sauerstoffverbrauch eines marinen (Achromobacter fischeri) und eines Süßwasser-Leuchtbakteriums (Vibrio phosphorescens) in Substraten, die gleiche Mengen Kohlehydrate oder Alkohole enthielten, gemessen. Es ist schwierig, Beziehungen zwischen der molekularen Struktur und der Oxydierbarkeit der Substrate zu erkennen. Es wurden von beiden Bakterienarten nur solche Verbindungen ausgenutzt, die 3 oder 6 C-Atome enthalten, und von den Disacchariden nur z. T. solche mit α-Bindungen. C. R. Baier (Kiel).

Porter, R., McCleskey, C. S. und Levine, M., The facultative sporulating bacteria producing gas from lactose. (Journ. of Bact. Vol. 33. 1937. p. 163—183.)

Ein Versuch, die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den verschiedenen Formen der gasbildenden, fakultativ anaeroben Sporenbildner zu klären, führte zu dem Ergebnis, daß alle aus verschiedenstem Material isolierten und untersuchten Stämme einschließlich der Originalkulturen von A. Meyer, Bredemann, Wagner, Schardinger und Northrop in zwei physiologisch und serologisch gut unterscheidbare Gruppen getrennt werden können, die Verff. als „macerans"-Gruppe und als „polymyxa"-Gruppe bezeichnet. Nach Ansicht der Verff. scheint es sich hier um zwei wohl charakterisierte Arten zu handeln, für die sie im Falle, daß sich die Gattungsbezeichnung Aerobacillus (Donker) allgemein durchsetzen sollte, die Artnamen Aerobacillus polymyxa und Aerobacillus macerans in Vorschlag bringen. Die erstere Art wäre u. a. synonym mit Bac. asterosporus, die letztere mit Bac. macerans. Bortels (Berlin-Dahlem).

Arnaudi, C., Études sur les bacilles anaérobies chromogènes. Clostridium Carbonei, nouvelle espèce. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 8. 1936. p. 251—255.)

Auf zerschnittenen Kartoffeln entwickelte sich unter streng anaeroben Bedingungen bei 37° C ein roter Bazillus, der als neue Art beschrieben wird. Es handelt sich um ein unbewegliches, grampositives Stäbchen mit terminaler Spore, das streng anaerob ist, einen roten Farbstoff bildet und am besten bei 37° C gedeiht. Seine morphologischen, kulturellen und biochemischen Eigenschaften werden ausführlich beschrieben.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Reploh, H., Untersuchungen über das serologische Verhalten von Colistämmen mit verschiedenem Antagonismus. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 90. 1937. S. 29—36.)

Steigerung der antagonistischen Wirksamkeit war unabhängig von der serologischen Eigenart der Stämme. Deshalb wird das antagonistische Verhalten der Colibakterien als eine zusätzliche Eigenschaft angesehen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Glotowa, E. W. und Grodko, N. S., Über den Gaserreger Bac. perfringens in Mischkulturen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1935. S. 402—414.)

Die Mikrobensymbiose stellt einen sehr wichtigen Variabilitätsfaktor dar. Der Bac. perfringens veränderte in Mischkulturen seine biologischen Grundeigenschaften in erheblichem Maße. Sarzinen und Bac. subtilis übten durch Stoffwechselprodukte einen fördernden Einfluß auf das Wachstum, die Vermehrung und Virulenz des Bac. perfringens aus; Bact. coli, Bac. oedematiens (Bac. Novyi) wirkten antagonistisch.

Einige der Symbionten (Sarzinen) verschwanden aus den Mischkulturen, da sie durch das Toxin des Bac. perfringens aufgelöst wurden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Aoki, M., Weitere agglutinatorische Untersuchungen der Aktinomyceten. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 87. 1936. S. 196—199.)

Bei 5 typischen Aktinomycetenstämmen wurden serologisch 3 neue Typen festgestellt. Zusammen mit den früher gefundenen, ist die Zahl der Typen mit eigenen spezifischen Rezeptoren damit auf 9 angestiegen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Aoki, M., Beziehung der agglutinatorischen Einteilung der Aktinomyceten zu der nach der Komplementbindungsreaktion. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 87. 1936. S. 200—201.)

Die Komplementbindungsreaktion lieferte hinsichtlich der Einteilung der Aktinomyceten ein mit der Agglutination völlig übereinstimmendes Ergebnis. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Aoki, M., Über die agglutinatorische Bedeutung von Arthrosporen bei Aktinomyceten. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 88. 1936. S. 60—62.)

Die Arthrosporen von Aktinomyceten enthalten mehr agglutinatorische Rezeptoren als die Fäden selbst. Da sich aus ihnen leicht eine gut homogenisierte Aufschwemmung herstellen läßt, eignen sie sich in besonderer Weise zur Durchführung der Agglutination.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Shih, Y. K., A taxonomic study of the genus Aspergillus around Wuchang, Central China (Hyphomycetes). (Lignan Sci. Journ. Vol. 15. 1936. p. 607—612.)

Es wird ein Bestimmungsschlüssel der Aspergillusarten und -stämme der Umgebung von Wuchang und eine morphologische Beschreibung zweier Stämme von A. oryzae gegeben. C. R. Baier (Kiel).

Childs, T. W., Variability of Polyporus schweinitzii in culture. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 29—50, 3 figs.)

Verf. untersuchte 50 verschiedene Myzele von Polyporus schweinitzii, die von verschiedenen Koniferen von der nördlichen Erdhalbkugel

stammten. Es zeigte sich, daß sich die Myzele in Kultur hinsichtlich der Bildung von Sporenträgern, des Wachstums auf Agar, der Reaktion gegen Säure und anscheinend auch der Fähigkeit, Holz zum Faulen zu bringen, unterschieden. Einzelne Unterschiede wurden auch bei Myzelen beobachtet, die aus Sporen hervorgegangen waren, die in Kultur gebildet waren.

Winkelmann (Münster i. W.).

Fischer, G. W., The longevity of smut spores in herbarium specimens. (Phytopathology. Vol. 26. 1936. p. 1118—1127.)

387 Herbarproben von 77 Spezies von Brandpilzen wurden auf Keimfähigkeit untersucht. 80 Proben enthielten keimfähige Sporen. Sporen von Tilletia levis waren nach 25, die von T. tritici nach 18, die von Ustilago sorghi nach 13 und die von U. bromivora nach 10 Jahren noch keimfähig. Es zeigte sich, daß nicht nur das Alter, sondern der Grad der Reife und die Zeit des Sammelns für die Erhaltung der Keimfähigkeit wesentlich sind. Im allgemeinen waren die Tilletiaceen länger keimfähig als die Ustilagineen. Winkelmann (Münster i. W.).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Kliewe, H. und Eldracher, E., Über die Lebensdauer der Typhus- und Paratyphusbazillen in sterilisierter und roher Milch. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1935. S. 269—275.)

Für Typhus- und Paratyphusbakterien stellt sterilisierte Milch mit einem niedrigen Säuregrad (bis etwa 10° S. H.) einen vorzüglichen Nährboden dar. In sterilisierter Milch mit 17—20° S. H. gingen Typhusbakterien bei 37° innerhalb von 24 Std. zugrunde, Paratyphusbakterien erst nach 1—2 Wochen. Bei niedriger Temperatur (20° und 8°) blieben dagegen sowohl Paratyphus- als auch Typhusbakterien selbst bei 33° S. H. wochenlang lebensfähig. Befanden sich jedoch Bakterien der Coligruppe in der sterilisierten Milch, so gingen Typhusbakterien auch bei niedrigen Säuregraden gewöhnlich innerhalb von 24 Std. ein, Paratyphusbakterien nach 6—7 Tagen.

Bei der Abtötung pathogener Darmbakterien in roher saurer Milch war ebenfalls die Anwesenheit von Bakterien der Coligruppe von ausschlaggebender Bedeutung. Waren letztere vorhanden, so wurden die pathogenen Keime, insbesondere Typhusbakterien, infolge der antagonistischen Wirkung der Colibakterien in wenigen Stunden bis Tagen vernichtet; Paratyphusbakterien waren etwas widerstandsfähiger. Fehlte Coli, so starben die pathogenen Bakterien nur bei höherer Temperatur (37°) ab, weil dann nur die gebildete Säure eine keimtötende Kraft ausübte.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Curtis, L. R., The use of formate-ricinoleate broth in controlling and preventing ropy milk epidemics. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 20. 1937. p. 147—150.)

Die von Stark und England vor 2 Jahren für die Coli-Aerogenes-Bestimmung in Milch herausgebrachte Formiat-Ricinoleat-Bouillon eignet sich auch zur Kontrolle des Auftretens von schleimiger Milch in Molkereibetrieben; denn der für die Schleimigkeit verantwortliche Mikroorganismus, das Bacterium lactis viscosum, gehört zu der Coli-Aerogenes-Gruppe. Es zeigte sich in der Tat bei der Betriebskontrolle immer eine Parallele zwischen der Gasbildung in dieser Bouillon (nach 20 Std. bei 37°)

und dem Auftreten von Schleim, wenn die betreffenden Milchproben 20 Std. bei 15,5—20° C aufbewahrt wurden. Es war auf diese Weise leicht möglich, festzustellen, an welcher Stelle in der Molkerei beispielsweise eine Infektion von pasteurisierter Milch oder pasteurisiertem Rahm durch dieses Bakterium stattfand. Da die Durchführung der Probe nur 20 Std. beanspruchte, konnten die Maßnahmen zur Unterdrückung des Fehlers schon bis zum Betriebsbeginn am nächsten Tage getroffen werden. Wenn auch nicht gesagt ist, daß eine Probe pasteurisierter Milch, die durch Verimpfung in diese Bouillon Gasbildung zeigt, nach Aufbewahrung unbedingt auch Schleimigkeit aufweisen muß, so ist sie aber jedenfalls „potentiell" schleimig. Auf der anderen Seite besteht die Gewißheit, daß ein pasteurisiertes Milcherzeugnis, das auf Grund des Ausfalls der Probe als von Coli-Aerogenes-Organismen frei zu betrachten ist, nur in ganz seltenen Fällen den Fehler der Schleimigkeit aufweisen wird. Demeter (München-Weihenstephan).

Hamburg, M., Der Einfluß von Malzdiastase auf die Nachgärung des Bieres. (Die Brau- u. Malzindustrie. Bd. 30. 1937. S. 25—27.)

Durch Zusatz von Malzamylase in Gestalt von Malzauszügen, deren proteolytische Enzyme ohne wesentliche Schädigung der amylolytischen weitgehend inaktiviert wurden, kann man die Nachgärung im Lagerkeller ohne Infektionsgefahr günstig beeinflussen. Erforderlich sind je hl Bier 100 000—300 000 Malzdiastaseeinheiten nach Pollak-Egloffstein.
Heuß (Berlin).

Engelhard, C., Milchsäure bei der Bierbereitung. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 60. 1937. S. 5—6.)

Der Aziditätsgrad spielt bei der Bierbereitung eine wichtige Rolle, es müssen deshalb alle aziditätsvernichtende Umstände nach Möglichkeit ausgeschaltet werden. Zur Verbesserung des p_H kann man sich der biologischen Säuerung mit Bacillus Delbrücki bedienen. Das Sauergut wird bei einer Temperatur von 48—50° C bereitet und der Maische oder der Würze oder beiden zugegeben, wodurch man das p_H der Vorderwürze in der Regel um etwa 0,2 verschieben kann. Von der günstigen Wirkung der Milchsäure macht man auch Gebrauch bei der Herstellung des sog. „Proteolytmalzes". Man weicht dabei Grünmalz in vorher auf biologischem Wege gesäuerte Malzwürze ein und tränkt es so mit der von Bacillus Delbrücki erzeugten Milchsäure. Das Malz wird dadurch zum Träger der Milchsäure. Die Mitverwendung von Proteolytmalz beim Brauprozeß beeinflußt die Wasserstoffionenkonzentration in gleichem Sinn wie die direkte biologische Säuerung. Heuß (Berlin).

Honecker, L., Die Stellung der Gerste in der Erzeugungsschlacht mit besonderer Berücksichtigung der Braugerste. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Zeitg. Bd. 77. 1937. S. 127—128.)

Die Braugerste ist eine sehr anspruchsvolle und empfindliche Kulturart, die in Ertrag und Qualität unter dem Einfluß wechselnder Umweltbedingungen erheblichen Schwankungen unterworfen ist. Qualitätseinbußen und Ertragsausfälle sind aber fast immer die Folge von Schädigungen durch Pilzerkrankungen, welche mitunter frühzeitig das Blattgewebe zerstören und dadurch die Stärkeassimilation beeinträchtigen. Besonders gefährlich sind der

Getreide-Mehltau und der Zwergrost. Da bei gewissen Gerstenrassen eine natürliche Immunität gegen diese Pilzkrankheiten festgestellt werden konnte, die durch Kreuzung mit andern Werteigenschaften sich kombinieren läßt, ist die Möglichkeit der züchterischen Bekämpfung von Mehltau und Zwergrost gegeben. Als Krönung langjähriger Arbeiten auf diesem Gebiet erscheint in diesem Jahr eine neue, gegen die wichtigsten Mehltaubiotypen immune Braugerstenzüchtung in der Reichssortenliste, die einen höheren Ertrag, niedrigeren Eiweißgehalt und höhere Extraktausbeute als die nächstbeste Sorte aufweist. Ähnliche Arbeiten laufen zur züchterischen Bekämpfung des Zwergrostes. Heuß (Berlin).

Schmidt, A., Keimfreie Würzebelüftung. (Allgem. Anzeiger f. Brau-, Malz- u. Hopfenbau. Bd. 53. 1937. S. 21—22.)

Die Kontrolle einer Anlage für keimfreie Belüftung der Bierwürze auf dem Kühlschiff und im Würzeberieselungskühlraum erstreckte sich auf die Filterwirkung, also auf die Feststellung des Entkeimungsgrades, ferner auf den biologischen Zustand der Luft in den beiden Würzeräumen. Man entnahm Luftproben von der Rohluft, von der filtrierten Luft und aus den Betriebsräumen. Die auf Würzegelatineplatten nach sieben Tagen zur Entwicklung gekommenen Kolonien wurden ausgezählt und auf 1 cbm Luft umgerechnet. Die Ausstelldauer der Petrischalen wurde der Luftgeschwindigkeit angepaßt. Der Organismengehalt der Luft war nach der Entkeimung außerordentlich niedrig. Die Filterwirkung lag zwischen 96,6 und 99,7%. Auch die biologische Beschaffenheit der Würze auf dem Weg vom Kühlschiff bis zum Einlauf in den Gärkeller war ausgezeichnet, es konnten darin keine Fremdorganismen nachgewiesen werden. Heuß (Berlin).

Schmorl, K., Über ältere und neuere Methoden der Keimprobe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 60. 1937. S. 6—7.)

Zur Untersuchung auf Gesundheitszustand, Keimfähigkeit und Keimungsenergie von Getreide verfährt man heute gern nach den Angaben von H. Kühn. Nach diesem Verfahren wird mit sterilen Petrischalen oder besonderen Keimkassetten nach Mohs gearbeitet, auch das zum Befeuchten dienende Wasser wird sterilisiert. Eine Probe dient der Untersuchung der Keimungsverhältnisse, eine zweite der Prüfung des Gesundheitszustandes. Diese wird bei 36—38° C gehalten, bei dieser Temperatur kommen manche Mikroorganismen zur Entwicklung, die sonst ausbleiben, beispielsweise der Erreger der Buttersäuregärung, der Erreger des Fadenziehens und der Kartoffelspaltpilz. Heuß (Berlin).

Shih, Y. K., Study on the molds concerned in the fermentation of Wheat Gluten in China. (Lignan Sci. Journ. Vol. 16. 1937. p. 27—38.)

Einleitend wird eine Übersicht über die sich mit der Bereitung in China verbreiteter Nahrungsmittel durch Gärungsvorgänge befassenden Literatur gegeben. Die Pilzflora der Gärung des sog. Minchin war bisher noch nicht untersucht. Minchin ist ein in China weitverbreitetes proteinreiches Nahrungsmittel, welches aus Weizenmehl bereitet wird. Die Herstellung wird in ihren verschiedenen Modifikationen beschrieben. Es wurden 7 Schimmelpilze aus Minchin isoliert. Ihre morphologischen und kulturellen Eigenschaften werden angegeben und die Bedeutung der Temperatur und Koch-

salzkonzentration auf ihr Wachstum und die von ihnen bewirkte Veränderung der Azidität und die Proteinanreicherung im Medium wurden untersucht.

C. R. Baier (Kiel).

Sacchetti, M., Activités microbiennes dans le vinaigre balsamique modénais. (Note préliminaire.) (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 8. 1936. p. 257—260.)

Die Herstellung des berühmten, wohlriechenden, balsamischen Essigs von Modena ist das Geheimnis einiger Familien, die das Fabrikationsverfahren von ihren Vorfahren übernommen haben. Verf. hat nun Gelegenheit gehabt, an dem als Rohstoff verwendeten Traubensaft, den verschiedenen Produktionsstufen, dem fertigen Erzeugnis sowie auch an den alten Fässern chemische und mikrobiologische Untersuchungen anzustellen. Er hat gefunden, daß an der Fermentation gewisse Hefen der Gattung Zygosaccharomyces und Essigsäurebakterien vom Typus Bact. aceti Hansen wesentlich beteiligt sind. Sie befinden sich als voluminöse Massen im Innern der alten Fermentationsfäßchen. Bortels (Berlin-Dahlem).

Porchet, Berthe, Races de levures provoquant la fermentation alcoolique à basse température. (Mitt. aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung u. Hygiene. Vol. 27. 1936. p. 42—45.)

Traubenmost, der bei —3° bis 0° C gelagert war, zeigte eine Gärung. Es müssen deshalb in dem Most Organismen vorhanden gewesen sein, die bei so niederer Temperatur den Most in Gärung bringen. Man konnte eine Heferasse (Saccharomyces ellipsoideus) feststellen, die die Gärung hervorrief. Sie wurde isoliert und damit Kulturen angestellt, wobei die Kaltgärhefe, verglichen mit anderen Heferassen, bei einer Temperatur von —1 bis —3° C in zwei Monaten 3,49 Vol.-% Alkohol bildete, während die Kontrollrassen gar keinen Alkohol entwickelt hatten. Ein anderer Versuch zeigte, daß die Kaltgärhefe bei 20°, bei + 2° und bei — 2° sich sehr stark vermehrt. Sie besitzt also die für die Praxis sehr wertvolle Eigenschaft, sich auch bei niederen Temperaturen noch sehr gut zu vermehren und gärkräftig zu bleiben. Die untere Grenze für die Entwicklung ist also bei dieser Rasse viel weiter herabgedrückt, als bei den üblichen Heferassen. Ein Gärversuch, der bei + 6° C mit verschiedenen Heferassen durchgeführt wurde und den Verhältnissen in kühlen Winzerkellern sehr nahekommt, zeigte, daß die Kaltgärhefe in einem Monat 8,86 Vol.-% Alkohol gebildet, also allen Zucker im Most vergoren hatte, während die üblichen Heferassen in dieser Zeit und bei dieser niederen Temperatur nur 1,6 bis höchstens 5,54 Vol.-% Alkohol bildeten. Man kann also durch Anwendung dieser Kaltgärhefe auch in kalten Kellern den Most vollkommen durchgären. Obwohl die Kaltgärhefe in einem Versuch mehrere Wochen bei 20° aufbewahrt worden war, behielt sie doch die Eigenschaft bei niederer Temperatur zu gären bei. Es handelt sich also um eine Rasseneigenschaft, nicht um eine vorübergehende Anpassung.

K. Müller (Freiburg).

Virtanen, A. I., The A.I.V.-process in theory and practice. (Monthly Bull. of Agric. Science and Practice. 1936. Nr. 10. p. 371—393.) (Intern. Inst. of Agric., Rome.)

Die Sicherheit des A.I.V.-Verfahrens bei der Ensilierung eiweißreichen Grünfutters beruht auf der Anwendung eines Schwefelsäure-Salzsäuregemisches, von dem der Grünmasse so viel zugesetzt wird, bis der p_H-Wert

auf 3—4 erniedrigt ist. Das Sauerfutter wird von den Tieren gern genommen und hat nichts von seinen Nährwerten eingebüßt. Es enthält keine freie Mineralsäure mehr, sondern nur noch wertvolle organische Säuren, vor allem Milchsäure. Die Mineralsäure dagegen ist von den Basen des Futters gebunden. Die vorschriftsmäßige Ansäuerung hat zur Folge, daß die Tätigkeit der Buttersäurebildner und Eiweißzersetzer vollständig ausgeschaltet wird, während gewisse Milchsäurebakterien noch unterhalb p_H 4 wirksam sind. Die Menge des anzuwendenden Mineralsäuregemisches hat sich ganz nach dem Basengehalt der für die Silos bestimmten Pflanzen zu richten, der wiederum nicht nur von der Pflanzenart, sondern auch von dem Basengehalt des Bodens abhängt, auf dem das Futter gewachsen ist. Die praktische Durchführung des Verfahrens wird unter Beifügung von Abbildungen ausführlich geschildert. Bortels (Berlin-Dahlem).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Flerow, K. W., Die Wirkung der Chlorate auf den Boden. (Sammelber. d. Allrussischen Inst. f. Pflanzenschutz. 1935. S. 171—178.) [Russisch.]

Laboratoriumsversuche mit verschiedenen Bodenarten (Schwarzerde, Grauerde, Podsol- und kastanienfarbiger Boden), denen verschiedene $NaClO_3$-Gaben erteilt wurden, haben zu den folgenden Ergebnissen geführt: die $NaClO_3$-Gaben erhöhten den Säuregrad und setzten (2½ Monate nach ihrer Einbringung) den Bakteriengehalt des Bodens sowie die Nitratmenge in diesem herab. Die Ammonifikationsprozesse wurden anfänglich intensiver. Der Boden zersetzte Chlorate zu Chloriden und die letzteren wurden nach einigen Monaten gänzlich ausgewaschen. M. Gordienko (Berlin).

Okada, Y., Contribution on the knowledge of the soil microflora of Pseudosasa-Association. III. Inoculative test with Rhizobia. (Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. 4. Ser. Vol. 11. 1936. p. 253—258.)

Rhizobium leguminosarum, Rh. phaseoli und wahrscheinlich auch andere Rhizobiumarten fehlen gewöhnlich in den untersuchten Humusböden der Pseudosasa-Assoziation. Es zeigte sich, daß sich die Wurzelknöllchen besser entwickeln, wenn dieser Boden mit $CaCO_3$ und noch besser mit $CaCO_3$ und K_2HPO_4 behandelt wird. Die Ursache wird in einer besseren Ernährung der Wirtspflanzen, die auch auf gedüngten aber nicht beimpften Böden ersichtlich ist, vermutet. C. R. Baier (Kiel).

Sabet, Y. S., A preliminary study of the Egyptian Soil Fungi. (Bull. Fac. Sci. Egypt. Univ. Nr. 5. 1935. 29 p.)

Die Pilzflora von 12 ägyptischen Böden verschiedener Art wurde untersucht. Der p_H der Böden ist verhältnismäßig hoch (8,22—8,50). 73 Pilzarten in 35 Gattungen wurden isoliert. Drei neue Arten werden beschrieben. Lehmige Böden sind artenreicher als sandige. Die Zahl der Pilze nimmt mit der Tiefe ab. In den oberen 15 cm zeigt sie Beziehungen zum Wassergehalt und der Wasserkapazität des Bodens. Die größte Zahl (174 000 pro g) wurde in einer stark gedüngten Gartenerde, die niedrigste (19 000 pro g) in einem Salzboden gefunden. Qualitativ zeigte sich kein wesentlicher Unterschied gegenüber europäischen und amerikanischen Böden. Quantitativ scheint die Pilzflora der ägyptischen Böden etwas ärmer zu sein.

C. R. Baier (Kiel).

v. Drigalski, Zur Wirkung des Lebertrans auf Bakteriengemische, insbesondere Erdbakterien und Sporenbildner. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 62. 1936. S. 1005—1006.)

In Lebertran und meist auch in Lebertran-Fett-Gemisch vermehren sich aus Erde gezüchtete Bakteriengemische nicht, sie scheinen sich sogar z. T. zu vermindern. Bei unmittelbarer Einsaat von Erde in sehr großen Mengen zeigte der 24 Std. bebrütete Tran eine überraschende Keimarmut, nach wenig Tagen eine Keimverminderung auf mindestens die Hälfte. Bouillon, mit stark infiziertem, wenige Tage bebrüteten Lebertran beimpft, blieb klar; Aussaat ergab nur einzelne Kolonien.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

University of Wisconsin, The University and Conservation of Wisconsin Waters. (Bull. Univ. Wisc. Ser. Nr. 2193. 1936. 79 p.)

Das vorliegende zweite Heft der „Wisconsin Science Inquiry Bulletins" gibt ein schönes Beispiel von wissenschaftlicher Gemeinschaftsarbeit und der Verbindung wissenschaftlicher Forschung mit praktisch-volkswirtschaftlichen Notwendigkeiten. — Das 1. Kapitel bringt eine Übersicht über die Beziehungen zwischen klimatischen und meteorologischen Faktoren und den Oberflächengewässern, über die landwirtschaftliche und technische Bedeutung der Gewässer, ihre staatliche Überwachung und die verschiedenen Probleme der wissenschaftlichen Hydrologie. — Das 2. Kapitel bespricht das Wasser für den menschlichen Genuß und den industriellen Bedarf. Die damit verbundenen geologischen, physikalischen, chemischen, bakteriologischen, technischen und gesetzlichen Probleme werden erwähnt. An bakteriologischen Problemen werden genannt: die Bedingungen der Infektion des Grundwassers mit pathogenen Keimen und die Lebensdauer derselben darin, die Bedeutung der Verunreinigung der Oberflächengewässer für ihre Verwendung als gewerbliches und Trinkwasser, die Bedeutung der Bakterienflora für die Wasserspeicherung des Bodens. — Das 3. Kapitel behandelt die organische Verunreinigung der Gewässer. Die verschiedenen Quellen der Verunreinigung werden erwähnt, desgl. die Wege zu ihrer Beseitigung und die damit verbundenen wissenschaftlichen, technischen und gesetzlichen Probleme. Aufgabe der Bakteriologie ist es, Standardmethoden auszuarbeiten, die eine einwandfreie Erkennung und Bewertung der Verunreinigung gestatten. Bakteriologie und Biologie sind beteiligt an der Erforschung des Belebtschlamm- und Faulverfahrens und der Faktoren, die eine Beschleunigung oder Verzögerung der Reinigung des Wassers und Abwassers bedingen. — Das 4. Kapitel ist der Seenforschung in Wisconsin gewidmet. U. a. wird über die bisherige bakteriologische Erforschung des Seenwassers und -schlammes berichtet, und es werden noch zu behandelnde Probleme genannt. — Das 5. Kapitel gibt eine Übersicht über die Möglichkeiten des Gewässerstudiums an der Universität von Wisconsin. Von den aufgezählten Vorlesungen, in denen u. a. gewässerkundliche Probleme behandelt werden, seien einige hier angeführt, da sie zeigen, welche Bedeutung der Bakteriologie in den U.S.A. zugemessen wird: medizinische Bakteriologie, allgemeine Bakteriologie, Bodenbakteriologie, Physiologie der Bakterien, Bakterienbestimmung.

C. R. Baier (Kiel).

Sartorius, F., Experimentelle Studien über einige hemmende und fördernde Faktoren beim Belebt-

schlammverfahren. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 114. 1936. S. 209—218.)

Schon geringe Übersalzung des Abwassers kann die Belebtschlammwirkung stören, doch kommt es dabei wesentlich auf die Art der Kationen an. Eisensalze wirken noch in sehr geringer Menge stark fördernd; auch Phenolgehalt geringeren Grades hat eine gewisse fördernde Wirkung. Kohle wirkt gleichfalls je nach Menge und Art des Zusatzes fördernd oder hemmend. Große Kohlenmengen zerstören die Belebtschlammwirkung; die leistungsfördernde Kohlewirkung verschwindet an sich schnell, hinterläßt aber noch eine andersartige spezifische Beschaffenheit des Schlammes.

Von verschiedenen Bakterienarten hatten bei künstlicher Anreicherung einzelne im Gegensatz zu anderen bedeutende oder mäßige Begünstigung der Belebtschlammwirkung nach gewisser Zeit im Gefolge. Neben einem Mycoidesstamm aus Abwasser selbst zeigten Bact. fluorescens und vulgare die besten Begünstigungen, mäßige Bact. coli und pyocyaneum.

Die Versuche wurden mit folgender empfehlenswerter, einfacher Apparatur durchgeführt: Zwei 5-Liter-Aquarienbecken wurden parallel zueinander aufgestellt, und an gemeinsamer Welle über der Mitte jedes Beckens wurde je ein Schaufelrad angeordnet. Die Welle stand durch entsprechende Zahnradübertragungen mit einem Elektromotor in Verbindung, so daß eine gleichmäßige, langsame Umwälzung unterhalten werden konnte.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Viehl, K., Untersuchungen über das Wesen der Selbstreinigung und der künstlichen biologischen Reinigung des Abwassers. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 119. 1937. S. 383—411.)

In sterilem und enzymfreien Wasser tritt nur eine ganz geringe Oxydation ein, auch erfolgt keine Ausflockung der Kolloide.

Mit einem Oxydationsmittel konnte in Gegenwart von Bakterien und Protozoen ein ähnlicher Verlauf des Reinigungsvorganges erzielt werden wie mit Belebtschlamm.

Bei der Abwasserreinigung unter aeroben Bedingungen ist der Anteil der Protozoen an der Gesamtlebewelt bedeutend größer als im Faulschlamm und im Boden. Die Umstellung der Lebewesen von anaeroben Verhältnissen, wie sie im Rohwasser im allgemeinen vorliegen, auf aerobe erfordert eine gewisse Zeit.

Die gelösten Abwasser-Bestandteile werden durch Bakterien abgebaut; dagegen erfolgt der Abbau der ungelösten organischen Substanz, die Ausflockung der Kolloide und die Beseitigung der Bakterien unter aeroben Verhältnissen im wesentlichen durch die Protozoen (Ziliaten). Bei der Entwicklung der Ziliaten treten 3 Maxima auf, entsprechend den 3 Stufen, in denen die natürliche Selbstreinigung des Abwassers vor sich geht (Abbau der organischen Substanz, Nitritbildung, Nitratbildung). Bei Luftabschluß haben die Ziliaten praktisch keinen Einfluß auf den Reinigungsvorgang. Eine Trennung der Bakterien von den Protozoen gelang sehr leicht durch kurzes Erwärmen auf 60° oder durch Filtration.

Für den normalen Verlauf der Selbstreinigung werden sehr viel Bakterienarten, aber nur wenige Protozoenarten benötigt. Mit einer Laboratoriumsanlage, die mit protozoenfreiem Belebtschlamm betrieben wurde, konnte wohl trotz starker Belastung eine weitgehende Abnahme des Permanganatver-

brauches und des biochemischen Sauerstoffbedarfs erzielt werden, doch war der Ablauf noch ziemlich trüb, da die Kolloide nur teilweise abgeschieden waren.

Ein nennenswerter Stickstoffverlust tritt auch in offenen Zuleitergräben nicht ein. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Gramm, K., Die Kieler Bucht als Vorfluter für städtische Abwässer. Bakteriologische Untersuchungen in der Kieler Bucht und der Kieler Außenförde. Dissertation Kiel. (Kieler Meeresforsch. Bd. 1. 1936. S. 73—124.)

Aufgabe der vorliegenden Untersuchung war es, festzustelleu, in welchem Grade und Umfange eine Verunreinigung der Kieler Bucht und Außenförde durch die städtischen Abwässer von Kiel bakteriologisch nachgewiesen werden kann. Zu diesem Zweck wurden 1½ Jahre lang Keimzählungen und -bestimmungen in diesem Seegebiet vorgenommen und in Verbindung mit physikalischen und chemischen Daten gedeutet. Bact. coli wurde in einer besonderen, hier bereits referierten Arbeit von Klie behandelt. Verf. konnte eine deutliche bakteriologische Verunreinigung der Kieler Bucht im Umkreise der Abwassereinleitungsstelle bei Bülk und z. T. auch der Kieler Förde nachweisen, bei starken westlichen Winden noch bis 8 km weit östlich. Der Grad der Verunreinigung ist von den jeweils anfallenden Abwassermengen abhängig. Sie macht sich hauptsächlich an der Wasseroberfläche bemerkbar, da sich das spezifisch leichtere Abwasser auf dem Salzwasser der Ostsee ausbreitet. Die Keimzahlen sind im Sommer höher als im Winter. Die Flora setzt sich hauptsächlich aus stäbchenförmigen Bakterien zusammen; und unter diesen sind Fluoreszenten und gelbwachsende Farbstoffbildner vorherrschend. Letztere wurden fast ausschließlich im verunreinigten Wasser gefunden. Farblose „Alkalibildner" waren ebenso wie die Fluoreszenten im verschmutzten und reinen Wasser häufig, desgl. Bact. violaceum. Bact. pyocyaneum, Vibrionen und Spirillen waren im verschmutzten Wasser häufig, im reinen seltener. Bact. prodigiosum wurde einmal, Str. faecium gar nicht gefunden, obgleich letzterer in Faeces stets vorhanden ist. Von Sporenbildnern wurden nur zwei mesentericusähnliche Formen isoliert. Auf Grund seiner Ergebnisse weist Verf. auf die Gefahr hin, die mit der Einleitung der nur grob geklärten Abwässer in die Kieler Bucht verbunden ist und macht Vorschläge zur Verbesserung der Anlagen. C. R. Baier (Kiel).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Schad, C., Les stations d'avertissements agricoles et la lutte contre le mildiou de la vigne. (Ann. d. Epiphyties et d. Phytogenetique. Vol. 2. 1936. p. 283—331.)

Die großen Schäden, die der Pilz Plasmopara viticola in den französischen Weinbergen noch in den allerletzten Jahren (1930, 1932) anrichtete, geben nun auch den französischen Forschern Anlaß, die Bekämpfung dieser Pilzkrankheit gründlich zu studieren, um zu einer wirksameren Bekämpfung zu gelangen. Verf. gibt eine Zusammenfassung der diesbezüglichen praktischen Arbeiten der französischen Weinbaustellen. Er bespricht zunächst die klimatologischen und die biologischen Verhältnisse, dann die Inkubationszeiten und die Abhängigkeit vom Wachstum der Reben. Hierbei gibt Verf. von den Untersuchungen K. Müllers und

seiner Mitarbeiter abweichende Inkubationszeiten an. So soll z. B. in Montpellier die Inkubationszeit für die Primärinfektion 9 Tage, für die späteren dagegen einheitlich 7 Tage betragen. Daß das nur möglich ist, wenn die Temperatur entsprechend hoch ist und daß eine Inkubationszeit von 10—14 Tagen im August und September nur bedingt sein kann durch Trockenperioden, ist aus den Beobachtungen nicht zu entnehmen. Auch sollen die Inkubationszeiten in Bordeaux um 1—2 Tage länger dauern, als nach der Inkubationskurve von Müller. Aber auch hier wird übersehen, daß die Kurve für günstigste Bedingungen entworfen wurde. Verf. gibt dann die verschiedenen Wege bekannt, die man in Frankreich heute noch begeht, um die Spritzzeitpunkte vorauszusagen. Da sie aber durch die Inkubations-Kalendermethode überholt sind und die an dieser Methode geübte Kritik offenbar auf Mißverständnissen beruht, braucht darauf nicht näher eingegangen werden. Jedenfalls ergibt sich aus den angeführten Protokollen über Niederschläge, Infektionen und Pilzausbruch, daß auch in Montpellier und in Clermont-Ferrand, wo angeblich die Inkubationszeiten anders sein sollen, als nach der Inkubationskurve berechnet und auch im Gegensatz zu den Beobachtungen von Bordeaux, die Inkubationszeiten je nach der Temperatur (Jahreszeit) ebenfalls schwanken. Die Beobachter haben offenbar die Infektion falsch angenommen. Während bei der Inkubationskurve und bei der Inkubations-Kalendermethode die Temperatur und die Niederschläge eine Hauptrolle spielen, möchten französische Forscher als weiteren wichtigen Punkt noch das Wachstum der Reben hierbei berücksichtigt haben. Der Grund hierfür ist aber nicht einleuchtend. K. Müller (Freiburg).

Müller, K. und **Sleumer, H.**, Biologische Untersuchungen über die Peronospora-Krankheit des Weinstocks mit besonderer Berücksichtigung ihrer Bekämpfung nach der Inkubations-Kalendermethode. (Landw. Jahrbücher. Bd. 79. 1934. S. 509—576.)

Die Arbeit gibt eine umfassende Darstellung der jahrzehntelangen Versuche über die Reben-Peronospora zur sachgemäßen Bekämpfung dieser wirtschaftlich so außerordentlich wichtigen Rebkrankheit. Dabei wird die umfangreiche Literatur aus anderen Ländern mit verarbeitet. Aus den Untersuchungen ergibt sich folgendes: Die Überwinterung des Pilzes erfolgt als Oosporen im Innern abgefallener Blätter. Diese Oosporen keimen bei 11—32° C, am besten bei 25° und infizieren junge Blättchen. Die Keimung der Sommersporen (Konidien) ist schon bei 2—3° C möglich, praktisch von Bedeutung aber erst bei 9—12° C. In feuchter Atmosphäre bleiben die Konidien 8—10 Tage lebensfähig, bei niederen Temperaturen sogar mehrere Wochen. Eine Infektion ist schon möglich, wenn die Blättchen 2,5×3 cm Größe erreicht haben und bei den Beerchen, so lange ihr Durchmesser 2,5 mm noch nicht überschritten hat. Später ist Infektion der Beerchen durch die Stiele möglich. Stets erfolgt die Infektion durch die Spaltöffnungen. Der Ausbruch erfolgt nachts zwischen 1—3 Uhr. Die Inkubationszeiten werden genau ermittelt. Sie wechseln in Mitteleuropa zwischen 18—5 Tagen, sie sind in erster Linie von der Temperatur, dann aber auch von der Luftfeuchtigkeit abhängig. In südlichen Weinbaugebieten, mit klimatisch anderen Verhältnissen, kann man die Inkubationszeit mittels der Inkubationskurve ablesen. Der Ausbruch erfolgt erst nach Ablauf der Inkubationszeit, wenn die Blätter naß sind und eine Temperatur in der Nacht von mindestens 12—15° C herrschte.

Für Primärinfektionen sind starke Regenfälle, für Sekundärinfektionen auch kleine, nur einige Stunden währende Regen oder starker Nebel oder Tau nötig, doch müssen die Rebteile in der Nacht naß bleiben und die Temperatur darf nicht unter 12° C sinken.

Zur Bekämpfung der Krankheiten genügen geeignete Kulturmaßnahmen nicht allein; eine direkte Bekämpfung mit kupferhaltigen Mitteln ist notwendig. Das aus dem Kupferniederschlag sich lösende Kupfer wird von den Konidien fixiert. Bei sehr starkem Auftreten des Pilzes ist darum mehr freies Kupfer nötig, als bei schwächerem Auftreten, gleichwohl ist es nicht nötig, die Kupferbrühen stärker als 1—2 proz. zu verwenden. Die Bespritzung der Blätter muß von der Unterseite her erfolgen, weil die Infektion durch die Blattunterseiten erfolgt, ebenso muß in das Stockinnere gespritzt werden, um die Blüten und Träubchen zu treffen. Voraussetzung für den Erfolg sind ferner Spritzen mit genügend hohem Druck und genügende Mengen Spritzbrühen. Der Methoden, um die Spritzzeitpunkte richtig zu erfassen, gibt es vielerlei. Sie werden überholt durch die in Baden seit zwei Jahrzehnten ausgearbeitete und nun in zahlreichen Weinbauländern eingeführte Inkubations-Kalendermethode, bei der auf die Biologie des Pilzes der Hauptwert gelegt wird. Da der Pilz zu seiner Entwicklung eine genau bestimmte Anzahl von Tagen benötigt, kann man den Zeitpunkt der Ausbrüche vorausbestimmen. Werden an den vorausgesagten Tagen die Reben durch Regen oder Tau naß und übersteigt die Lufttemperatur 12° C, dann bricht der Pilz hervor. Bis dahin muß dann gespritzt sein. Dieser Peronospora-Voraussagedienst hat die frühere ziellose und unwirtschaftliche Peronosporabekämpfung in eine planmäßige Schädlingsbekämpfung umgewandelt. Die Erfolge, die dadurch erzielt wurden, waren groß. In Baden wurden die Erträge im Jahresdurchschnitt verdoppelt. Dadurch werden Millionenwerte erhalten.

K. Müller (Freiburg).

Hey, A., Klinkowski, M. und Richter, H., Der Stengelbrenner (Anthraknose) der Serradella. (Nachrichtenbl. f. d. dtsch. Pflanzenschutzdienst. 17. Jahrg. 1937. S. 23—24, 1 Abb.)

In Ostpommern, in der Grenzmark und in der Neumark wurde im Sommer 1936 eine bisher unbekannte Krankheit an Serradella beobachtet, die bei stärker befallenen Flächen einen Verlust an Futtermasse von 40—70% verursachte. Bei näherer Betrachtung erkennt man über die ganze Pflanze verteilt, dunkle, bläulichbraune, etwas eingesunkene nekrotische Stellen, die den Stengel teilweise oder ganz umfassen können. Liegen die Schadstellen im mittleren oder oberen Teile der Pflanze, so können die unteren gesunden Pflanzenteile durch Bildung von Seitensprossen einen Teil des Schadens wieder ausgleichen. Häufig tritt die Erkrankung aber am Wurzelhals, Stengelgrund oder an den unteren Sproßachseln auf. In diesen Fällen stirbt die ganze Pflanze ab. Besonders stark zeigt sich die Krankheit in Senken und an durch Wald geschützten Stellen. Unterschiede im Befall ließen sich bei den verschiedenen Sorten nicht feststellen. Einen Einfluß schien die Aussaatzeit zu haben. Zur normalen Saatzeit im April in den Boden gebrachte Serradella war z. B. stark befallen, während im Juni gesäte vollkommen gesund blieb. Als Erreger wurde Colletotrichum trifolii Bain et Essary festgestellt. Dieser Pilz wurde 1933 erstmalig in Deutschland an Luzerne beobachtet. Als Wirtspflanzen kommen außer Vertretern der Gattungen Trifolium, Medicago und Melilotus nunmehr auch die Gattung Ornithopus in Frage.

Winkelmann (Münster i. W.).

Tidd, J. S., Studies concerning the reaction of barley two undescribed physiologic races of barley mildew, Erysiphe graminis hordei Marchal. (Phytopathologie. Vol. 27. 1937. p. 51—68, 2 figs.)

Das Verhalten von 85 Gerstensorten im Sämlingsstadium gegen 2 neue physiologische Formen von Erysiphe graminis hordei wurde im Gewächshaus untersucht. Die neuen Formen werden als Form 6 und 7 bezeichnet. Außer den von Mains und Dietz verwendeten Standardsorten Black Hulles C. J. 666, Goldfoil C. J. 928, Nepal C. J. 595 und Peruvian C. J. 935 wurde die Sorte Heils Hanna 3 C. J. 682 als Standardsorte hinzugezogen. 5 Wildsorten von Hordeum erwiesen sich als sehr resistent gegen die Form 6. Die Reaktion gegen die Formen 6 und 7 war bei Gerstensämlingen im Winter und Frühjahr kaum verschieden. Untersuchungen an F_2- und F_3-Nachkommen von 3 Kreuzungen ergaben, daß die Vererbung der Resistenz oder Anfälligkeit als Sämlinge nach den einfachen Mendelschen Regeln erfolgt. Winkelmann (Münster i. W.).

Eddins, A. H., Sclerotinia rot of Irish potatoes. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 100—103, 2 figs.)

Sclerotinia sclerotiorum, die zuerst von Pethybridge in Irland an Kartoffeln als Krankheitserreger gefunden wurde, stellte Verf. in und in der Nähe von Kartoffelfeldern an Brassica oleraceae var. capitata, Lycopersicon lycopersicon, Ambrosia elatior, Sonchus oleraceus, Calendula officinalis, Erechtites hieracifolia und Radicula obtusa fest. Die Krankheitssymptome an Kartoffeln werden eingehend beschrieben. Bei der Kultur auf Nährböden bildete S. sclerotiorum reichlicher Myzel und größere Sklerotien in geringerer Zahl als S. intermedia und S. minor. Bei Infektionsversuchen wurde durch S. sclerotiorum bei allen Pflanzen, durch S. minor bei 11 von 20, durch S. intermedia jedoch keine Infektion hervorgerufen. Winkelmann (Münster i. W.).

Luthra, J. Ch., and Sattar, A., Some studies on the Sclerotial diseases of rice (Sclerotium oryzae Catt.) in the Punjab. (Indian Journ. of Agric. Sc. Vol. 6. 1936. p. 973—984.)

Typische Merkmale dieser Reiskrankheit sind Verfärbung und Welken der Blattscheiden, Fäulnis und Umknicken der Halme, sowie das Auftreten von schwarzen Flecken, die als Sklerotien von Sclerotium oryzae erkannt wurden. Die ersten Symptome traten an 2—3 Monate alten Pflanzen auf. Die Krankheit ist besonders im Punjab verbreitet und kann in den Reiskulturen beträchtlichen Schaden anrichten. Sie wird durch das Saatgut wie auch durch den Boden (infizierte Stoppeln) übertragen. Die Stärke des Befalls hängt von dem Anfälligkeitsgrad der Reissorte ab.

Bärner (Berlin-Dahlem).

Wood, F. C., Studies of „damping off" of cultivated mushrooms and its association with Fusarium species. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 85—94, 2 figs.)

Verf. untersuchte die Ursache des „Umfallens" von kultivierten Pilzen. Ermittelt wurden Fusarium oxysporum, F. martii, F. culmorum, F. flocciferum, F. redolens, F. sambucinum, F. sambucinum Form 6. Am meisten wurden F. oxysporum und

F. martii gefunden. Mit diesen beiden wurden auch Infektionsversuche durchgeführt. Winkelmann (Münster i. W.).

Hengl, Franz, Zur Bekämpfung der Stielfäule der Trauben. (Wein und Rebe. Bd. 18. 1936. S. 142—144.)

Der Stielfäulepilz (Botrytis cinerea) breitet sich an allen welken und faulenden Rebteilen rasch aus. Diese abgestorbenen Teile sind darum, wenn sie nicht ständig entfernt werden, eine Ansteckungsgefahr. Auch Reberziehung, Stickstoffdüngung, zu enger Stand der Stöcke u. a. begünstigen u. U. die Stielfäule, die ein Absterben der Traubenstiele und Verwelken der Trauben vor der Reife bedingt. Bei Bekämpfungsversuchen bewährte sich reine Kottonölschmierseife und zwar 150—200 g je hl Spritzbrühe als bestes Mittel zur direkten Bekämpfung der Stielfäule. Man muß die Bespritzung der Träubchen so frühzeitig durchführen, daß die Spritzbrühe noch leicht an die Beerenstielchen und Traubenkämme gelangen kann, also kurz nach der Rebblüte zum erstenmal und u. U. nochmals nach 14 Tagen.

K. Müller (Freiburg).

Keitt, G. W., Pinckard, J. A., Shaw, Luther und Riker, A. I., The toxicity of certain chemical agents to Erwinia amylovora. (Journ. of Agricultural Research. Vol. 53. 1936. p. 307—317.)

Verff. untersuchten die Giftwirkung verschiedener chemischer Verbindungen und Spritzpräparate auf Erwinia amylovora. Als Versuchsmaterial dienten u. a. auch Einzellkulturen; jedoch waren die Schwankungen der Versuchsergebnisse bei solchen Kulturen nicht geringer als bei Verwendung anderer Kulturen. Von den in vergleichenden Untersuchungen geprüften chemischen Verbindungen ($CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$, $ZnCl_2$, K_2CrO_4, $FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$, $NiCl_2 \cdot 6\,H_2O$, Na_2CO_3, $CuCl_2 \cdot 2\,H_2O$, CH_3COOH, $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$, K_2CO_3, $H_3AsO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$, $CdCl_2 \cdot 2\frac{1}{2}\,H_2O$, $Ca(OH)_2$, HCl, C_6H_5OH, $NaOH$, KOH, $Fe_2(SO_4)_3$, $Hg(CN)_2$, C_2H_5HgCl, $HgCl_2$, $HgCl$, HgO, Ag_2SO_4) zeigten die Quecksilberverbindungen die beste Wirkung. Der sonst mit Erfolg gegen Pilzkrankheiten der Äpfel und Birnen verwandte Schwefelkalk wirkte auf Erwinia amylovora in den in der Praxis üblichen Dosen wenig oder gar nicht. Dagegen übte Bordeauxbrühe und Zinksulfatkalk auf den Erreger des Feuerbrandes in den bei praktischer Anwendung üblichen Mengen eine starke Giftwirkung aus. Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Bennet, C. W. und Esau, Katherine, Further Studies on the relation of the curly top virus to plant tissues. (Journ. of Agricultural Research. Vol. 53. 1936. p. 595—620.)

Anatomische Untersuchungen ergaben, daß das „curly top“-Virus auch im Phloem von Tabak und Rüben vorkommt. Nicht resistente Sorten von Rüben zeigten nekrotische sowie hypertrophische und hyperplastische Veränderungen am Phloem und Pericykel. Der Saftstrom verlief zwischen den Zellen des Außenphloems und wurde an der Oberfläche von Blattstengel und Blättern ausgeschieden. — Bei der resistenten Sorte U. S. 33 waren die anatomischen Abnormitäten im Phloem weniger stark ausgeprägt; das Phloem schied hier weniger Flüssigkeit aus. Das Phloem kranker Tabakpflanzen zeigte ähnliche Degenerationserscheinungen wie bei Rüben; jedoch wurden bei Tabakpflanzen hypertrophische und hyperplastische Veränderungen des Gewebes nicht beobachtet. Exsudate zwischen den Zellen konnten nicht festgestellt werden, ebenfalls zeigten Blatt- und Blattstengeloberfläche

keine Saftausscheidungen. Die mit verschiedenen Geweben resistenter Rüben angestellten Versuche ergaben im parenchymatischen Gewebe des Stengels sehr geringe Virusmengen. Beim Vergleich des parenchymatischen Gewebes mit den Gefäßbündeln konnte beobachtet werden, daß die Viruskonzentration in den Gefäßbündeln höher ist als im Parenchymgewebe. Unreife Rübensamen enthalten viel weniger Virus als reife Samen, in denen die Viruskonzentration sehr hoch ist. Kein Virus wurde im Embryo entdeckt. Samen mit hohen Viruskonzentrationen keimen sehr leicht, und die Embryonen verbrauchen das Perisperm ohne sich zu infizieren. Nach 3 Monaten wird das Virus in trockenem Samen inaktiv. Aus Samen, Samenschale und Placenta sowie aus allen Teilen der Tabakpflanze konnte Virus gewonnen werden. Kein Virus enthielten Blütenstaub und andere Pflanzenteile, die keine Gefäßbündel besitzen. Nach Ansicht der Verff. vermehrt sich das Virus im Phloem, da es hier in stärkster Konzentration vorliegt.

Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Brierly, P. und McWhorter, Frank P., A mosaic of Iris. (Journ. of Agricultural Research. Vol. 53. 1936. p. 621—632.)

In Washington, Oregon und Californien wurde im Jahre 1928 eine Mosaikkrankheit an Iris entdeckt, die aus den Niederlanden eingeschleppt worden war. Die Symptome der Krankheit bestanden in mosaikartigen Flecken auf Blättern und Kelchblättern, im kümmerlichen Wuchs der Pflanze sowie „breaking“ der Blüten. Die Epidermiszellen der mosaikkranken Blätter waren kleiner als die der normalen Blätter. Weiterhin zeigten die kranken Blätter vakuolige und netzartige intrazelluläre Einschlüsse. Die Plastiden waren in ihrer Menge reduziert. Das Virus war übertragbar durch Transplantation kranker Gewebeteile in gesunde Pflanzen sowie durch Injektion von Säften kranker Pflanzen. Mechanische Methoden vermochten das Virus nicht zu übertragen. Illinoia solanifolii und Mycus persica konnten die Pflanzen infizieren, während Mycus pelargonii, Mycus circumflexus und Rhopalosiphoninus tulipaella das Virus nicht übertragen konnten. Infektionen zwischen verschieden gefärbten Sorten sowie zwischen holländischen und spanischen Sorten waren leicht zu bewirken. Auch ließ sich das Virus leicht von Iris recardi, Iris ingularis alba und Iris William Mohr übertragen. Versuche, Tabak, Tomaten, Petunien und Tulpen mit Virus der Iris zu infizieren, verliefen negativ. Umgekehrt war eine Übertragung der Krankheit von Tulpen und Lilien auf Iris nicht möglich.

Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Oortwijn, Botjes, J. G., Verschil in Virulentie bij het Virus van de Stippelstreepziekte in de Aardappelplant. (Unterschied in Virulenz beim Virus der Strichelkrankheit in der Kartoffelpflanze.) (T. o. Pl. Heft 1. 1937. S. 1—9.)

Es betrifft hier eine Virusuntersuchung einer Strichelkrankheit aus der „Akropetalnekrose“-Gruppe nach Quanjer, welche in Holland am meisten bei „Eersteling“ auftritt. Das Virus kann durch Übertragung auf andere Kartoffelsorten Strichelkrankheit verursachen und ist latent in verschiedenen Sorten anwesend, jedoch mit starken Schwankungen in der Virulenz. Diese treten besonders hervor sowohl bei der direkten Impfung (Knollenimpfung) wie bei der indirekten Impfung (Nachbarpflanzenimpfung). Aus der Prozentzahl gelungener Knollenimpfungen kann man Schlüsse ziehen

bezüglich der Gefahr bei benachbarten Anpflanzungen verschiedener empfindlicher Sorten. Je größer die Virulenz, um so schneller breitet das Virus sich in den befallenen Pflanzen aus. Bei sehr langsamer Ausbreitung können sogar Knollen kranker Pflanzen gesunde Pflanzen hervorbringen.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Schirjaewa, Tajakin u. a., Die Anwendung des Bariumchlorids gegen Kohlblattlaus. (Obst- und Gemüsebauwirtschaft. Bd. 4. 1936. S. 79.) [Russisch.]

Das Bespritzen mit Bariumchlorid (0,5 kg $BaCl_2$ + 100 g Roggenmehl + 1 l Wasser) hat sich als sehr gute Bekämpfungsmaßnahme gegen Kohlblattlaus erwiesen. Eine 100 proz. Wirkung trat schon nach 30—50 Min. nach dem Bespritzen ein.

M. Gordienko (Berlin).

Vecht, J. van der, Prooven met derris tegen insectenplagen in Nederlandsch-Indië. (Landbouw. Bd. 11. 1935/36. S. 401—465.) [Holländ. m. engl. Zusfassg.]

Versuche mit Derris-Staub zur Bekämpfung einer Reihe von niederländisch-indischen schädlichen Insekten hatten sehr gute Resultate. Der Giftstoff war teils in Java erzeugt, teils aus Singapore bezogen; seine chemische Zusammensetzung wurde untersucht. Zu den Arten, gegen welche Derris mit Erfolg (im Felde) angewendet wurde, gehörten u. a. die Kohlschabe und eine große Plage der Kokospalme, die Raupe von Bracharthona catoxantha, ferner Epilachna; Prodenia litura wurde dagegen wenig beeinflußt. Als Spritzmittel käme Derris vielleicht in Betracht gegen Eurydema, Dysdercus und dgl. Wanzen, als Staubmittel gegen Helopeltis; die betr. Versuche müssen noch fortgesetzt werden. Derris wirkte auch gegen Ameisen (Dolichoderus) als Vernichtungs- und Abschreckungsmittel.

K. Friederichs.

Marcovitch, S., Control of the Bean Weevil and the Cowpea Weevil. (Journ. econom. Entom. Vol. 28. 1935. p. 796—797.)

Es wurde festgestellt, daß von den Bohnenkäfern Mylabris quadrimaculata nur „Kuherbsen" (Vigna sinensis) angriff, M. obtocta nur Bohnen (Phaseolus sp.). Die Bohnen können durch einen Zusatz von 2% Kalk geschützt werden, da die Larven vor dem Einbohren herumkriechen und so mit dem Kalk in Berührung gelangen. Die andere Käferart dagegen bohrt sich direkt unter dem Ei ein, das auf die Oberfläche des Samens gelegt wird; dieser Schädling kann daher nur mit 50 % Kalk unterdrückt werden, praktisch also damit nicht. Natriumfluorsilikat schützt die Bohnen bei einem Zusatz von 1 : 1000, die Erbsen dagegen müssen 1 : 500 davon erhalten.

K. Friederichs.

Engelhard, C., Kornkäferbekämpfung durch Areginal und Grodyl-Neu. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Zeitg. Bd. 77. 1937. S. 154.)

Der Gaskampf steht bei der Abwehr gegen den Kornkäfer an erster Stelle, weil nur durch Vergasung der Schädling in all seinen Entwicklungsstadien ohne Schädigung des Getreides abgetötet werden kann. Die Be-

gasung mit „Areginal Bayer“ ist einfach und preiswert durchzuführen, erfordert aber eigene Silozellen, weil die üblichen Bodenräume in der Regel nicht vollständig dicht abzuschließen sind. Mittels eines Gebläses wird ein Gemisch von Areginaldampf und Luft durch den Getreidesilo geführt. Die Konzentration soll nicht weniger als 30 ccm Areginal je cbm betragen, als Optimum gelten 60—70 ccm/cbm. Unter normalen Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen werden etwa 500 ccm Areginal je Tonne Getreide benötigt. Auf die eigentliche Begasung folgt eine Nachwirkungszeit von 12 Std., an die sich dann die Entgasung und Belüftung anschließt. Areginal ist feuergefährlich und darf nur in vorschriftsmäßig gebauten Anlagen zur Vergasung gebracht werden.

„Grodyl-Neu“ eignet sich besonders zur Reinigung und Entseuchung der Schütt- und Kornböden. Das Mittel ist geruchlos, ungiftig und nicht feuergefährlich. Man rührt 1 l mit 3 l Wasser an und verdünnt mit weiteren 6 l Wasser. Mit dieser 10 proz. Lösung wird der leere, besenreine Raum sorgfältig und gründlich ausgespritzt. Ein bis zwei Tage später ist der behandelte Lagerraum wieder benutzbar. Heuß (Berlin).

Verschiedenes.

Bechhold, H., Die Abtötung schwebender Luftkeime durch bestrahlte Stoffe. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 119. 1937. S. 193—212.)

Durch Versprühen von ätherischen Ölen und anderen Stoffen, die einer Ultraviolettbestrahlung ausgesetzt waren, konnte eine befriedigende Raumdesinfektion erzielt werden. Durch die Bestrahlung erfuhren die meisten untersuchten Stoffe teils eine sichtbare, teils eine unsichtbare Veränderung, die gewöhnlich in einer Peroxydasebildung bestand. Der Gehalt an flüchtigen Peroxyden lief jedoch im allgemeinen mit der bakteriziden Wirkung nicht parallel.

Manche der bestrahlten Stoffe erfuhren mit der Zeit eine Abnahme ihres Abtötungsvermögens gegenüber Bakterien.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Ikeda, Sh., Beiträge zum Studium der oligodynamischen Silberwirkung mit besonderer Berücksichtigung der Halogen-Silberverbindungen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 269—278.)

Auf normalen Agarnährböden zeigten die mit Oxydationsmitteln aktivierten Silberbleche eine stärkere Wirkung als die Bleche, die mit Salzsäure aktiviert wurden. Von den elektrolytisch aktivierten Blechen wirkten die in Na_2CrO_4 aktivierten am stärksten bakterizid. Wenn auf den Nährböden zuerst die aktivierten Silberbleche gelegt und erst nach deren Wegnahme die Nährböden beimpft wurden, war durch die weitere Diffusion der Silberionen eine Vergrößerung der Hemmungszone bemerkbar. Eine Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens durch die Einwirkung der Silbersalze war nicht bemerkbar.

Die von Paul und Krönig angegebene Regel, daß die bakterizide Wirkung einer Metallsalzlösung nicht nur von der Konzentration des in Lösung befindlichen Metalls abhängt, sondern auch von den spezifischen Eigenschaften der Metallsalze, insbesondere des Anions, bestätigte sich auch für die geprüften Silbersalze. Chlorsilber wirkte im Vergleich zum Chromsilber relativ besser; Bromsilber und Jodsilber wiederum relativ besser als Chlorsilber, im Vergleich zur jeweiligen Silberionenkonzentration. Zyansilber wirkte im Vergleich zu seiner Löslichkeit sehr schwach.

Außer der von Leitner eingehend studierten Salzhemmung besteht noch eine besondere Ionenhemmung. Die Bromsilberwirkung wurde durch die Anwesenheit der Bromionen unvergleichlich stärker gehemmt als die Chlorsilberwirkung, diese

wiederum schien bei Anwesenheit der Chlorionen stärker gehemmt zu werden als die des Bromsilbers.

Zur Desinfektion von eiweißhaltigen Substanzen genügten sämtliche geprüften schwer löslichen Silbersalze nicht, da die Anwesenheit von organischen Substanzen sie in ihrer Bakterizidie hemmte. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Huss, R., Über das Vorkommen von Proteusstämmen, die von Typhus-, Paratyphus- und Dysenterieseren agglutiniert werden. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 217—220.)

Beschreibung von 10 Proteusstämmen (9 aus Fäzes, 1 aus Hackfleisch), die eine mehr oder weniger konstante Agglutinabilität für Typhus-, Paratyphus- oder Ruhrsera zeigten. In 5 Fällen stammten die Stämme von Kranken, 2 mal von Gesunden aus der Umgebung von Kranken, bei denen früher oder gleichzeitig pathogene Mikroorganismen der Art nachgewiesen worden waren, die den Agglutinationsverhältnissen des Proteusstammes entsprach. Da die Antigenstruktur bei 4 von diesen Proteusstämmen bei eingehender Prüfung sich deutlich von derjenigen der spezifisch pathogenen Darmbakterien unterschied, handelte es sich wahrscheinlich um eine Paraagglutination. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Nishiyama, M., Über das Vorkommen von Darmspirochäten bei Menschen und Tieren. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 136. 1936. S. 370—382.)

Die Prüfung von 227 Stühlen gesunder und kranker Kinder auf Darmspirochäten hatte in 22 Fällen (= 9,7%) ein positives Ergebnis. Es handelte sich hauptsächlich um Sp. eurygyrata, häufig vergesellschaftet mit Sp. stenogyrata. Gesunde Erwachsene zeigten zu 32% (von 50 Proben) im Stuhl Spirochäten (vorwiegend Sp. eurygyrata), Kranke zu 52,8% (von 89 Proben).

Die Spirochäten vermehren sich im Darm. Sie fanden sich am häufigsten im Blinddarm, seltener in den distaleren Darmabschnitten. Es bestand kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Darmspirochäten und spezifischen Krankheiten.

Unter den Säugetieren ergab sich eine hohe Prozentzahl des Vorkommens von Darmspirochäten bei Marsupialia, Primates, Rodentia (besonders Ratten) und Ungulata. Bei Rodentia und Ungulata traten außerdem häufig fusiforme Bakterien auf. Unter Vögeln wiesen häufig die zur Gruppe der Neornithes carinatae gehörigen Darmspirochäten auf. In überwiegender Zahl entsprachen die bei Tieren nachgewiesenen Spirochäten der Sp. eurygyrata. Bei Mäusen und Ratten fand sich überdies vielfach die Sp. stenogyrata.
Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Bode, H., Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. V. Mitteilung: Die Bakteriensymbiose bei Blattiden und das Verhalten von Blattiden bei aseptischer Aufzucht. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 391—403.)

Von den Bakteriocyten des Fettkörpers von Periplaneta americana ausgehend gelingt die Kultur des Symbionten in Felischbouillon bei großer Aussaat; Tröpfchenkulturen von wenigen Bakterien oder Einzelzellen wuchsen nicht; auch steril geschlüpfte Larven ergaben keine Kulturen. Infolgedessen wagt Verf. doch nicht zu entscheiden, ob es sich um den wirk-

lichen Symbionten handelt. Die isolierten, in der Außenflora im übrigen nicht nachzuweisenden Bakterien scheinen mit denen früherer Autoren identisch zu sein; sie gehören anscheinend in die Verwandtschaft der subtilis- und mesentericus-Gruppe. Anzeichen für das Vorkommen von Hefen oder nicht-stäbchenförmigen Bakterien wurden nicht gefunden.

Unvollständig zusammengesetzte Nahrung kann durch das Vorhandensein des Symbionten nicht vervollständigt werden. Unter aseptischer Aufzucht reicht aber auch vitaminhaltige pasteurisierte Nahrung nicht aus für den normalen Verlauf der Entwicklung, was aber bei Infektion durch Schimmelpilze oder Hefen der Fall ist. Der Symbiont kann also augenscheinlich den Wirt nicht von den Mikroorganismen seiner Umgebung unabhängig machen. Rippel (Göttingen).

Klopstock, F. und Vercellone, A., Chemische und immunbiologische Versuche über die Natur der Hefe-Polysaccharide. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 88. 1936. S. 446—459.)

Die nach der Methode Sevags aus Hefezellen gewonnenen Polysaccharide stellen immunbiologisch Haptene dar; sie waren nicht imstande, Antikörper zu erzeugen und riefen auch mit Schleppersubstanzen nur spärliche Antikörperbildung hervor. Sie gaben jedoch mit Seren von mit Vollhefe vorbehandelten Kaninchen in der Komplementbindungsprobe bis zu hohen Verdünnungen hinauf positive Reaktionen.

Die Hefepolysaccharide erwiesen sich bis zu einem gewissen Grade als typenspezifisch. Die Polysaccharide der Bierhefe und der Torula utilis gaben mit homologen Seren vielfach stärkere Reaktionen als mit heterologen Seren. Die Polysaccharide von Saccharomyces fragilis dagegen zeigten kein typenspezifisches Verhalten.

Die Hefepolysaccharide reagierten mit Pneumokokkenimmunserum Typ II in ausgesprochenem Maße, während sie mit den Immunseren vom Typ I und III nicht ansprachen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Specht, H., The culture of Spirostomum ambiguum (Arch. Protistenkde. Bd. 85. 1935. S. 150—152.)

Spirostomum ambiguum, einer der größten Ciliaten, dient häufig zu Experimenten, und es ist daher wünschenswert, eine Methode zu reichlicher Züchtung einheitlichen Ausgangsmaterials zu besitzen. Als das beste Medium hierzu erwies sich eine folgendermaßen hergestellte Mischung: 1 Teil Heu von Wiesenlieschgras, 1 Teil Weizen und 98 Teile Leitungswasser, gekocht bis zur Abtötung der Weizenkörner; auf jeden Liter davon wird ein Löffel voll frischen Kuhdungs gegeben und nach 2—3 Tagen eine Pipette voll Spirostomen aus einer alten Kultur. Kuhdung allein ernährt sie nicht, sondern er scheint mehr die Aufgabe zu erfüllen, das Medium alkalisch zu erhalten als ein Puffer von großer Kapazität und geringem osmotischen Wert. Wenn die Vermehrung der Sp. nachläßt, so wird sie durch einen Zusatz von Kuhdung wiederhergestellt, und die Kultur kann dann noch nach einem Jahr reichlich Material liefern. K. Friederichs.

Abgeschlossen am 19. Mai 1937.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 96. No. 20/23.

Ausgegeben am 10. August 1937.

Über die quantitative Auswertung des Coli-Titers.

[Aus dem Institut für Gärungsgewerbe und landwirtschaftliche Bakteriologie beim Museum für Gewerbe und Landwirtschaft, Warschau.]

Von **T. Matuszewski** und **J. Supińska.**

I. Einleitung.

In zahlreichen Modifikationen der Coli-Titerbestimmungen setzt man wechselnde Mengen des zu untersuchenden Wassers bzw. der Milch kleinen Mengen des Nährbodens zu, in dem sich die Bakterien der Coli-aerogenes-Gruppe durch Gasentwicklung oder durch Farbreaktionen kennzeichnen. Meistens sät man die zu untersuchenden Flüssigkeiten in je zehnfacher Verdunnung aus und zwar 10 ml, 1 ml, 0,1 ml usw. und dementsprechend drückt man häufig den Coli-Titer in der Form aus: Bact. coli ist in 10 ml, bzw. in 1 ml, 0,1 ml usw. anwesend. Der Ausdruck dient uns zur Qualifikation des Wassers oder der Milch nach gewissen Normen.

Die genannten Methoden (die häufig mit der exakteren Diagnose der auftretenden Bakterien vom Typus der Coli-Gruppe verbunden sind) bilden in der Tat quantitative Methoden. Wir verzichten zwar auf die Beantwortung der Frage, wieviel von den gesuchten Bakterien sich in einer Volumeneinheit befinden, trachten aber festzustellen, ob sie sich in diesem Volumen vorfinden. Wir verzichten also in gewissem Grade auf die Genauigkeit der Bestimmung.

In den Beschreibungen solcher Methoden finden wir gewohnlich keine näheren Angaben, wieviel Parallelen (Reagenzgläser oder Gärkölbchen) man fur jede Verdünnung aufstellen soll. Das überläßt man jeweils jedem Laboratorium. Bei Massen-Analysen ist selbstverständlich die Tendenz zur Einschränkung der Zahl der Parallelen vorhanden.

Die Bestimmung des Coli-Titers nach den obengenannten Methoden ist nichts anderes als die Anwendung der sog. Verdünnungsmethode. In den letzten Jahren wurde die Verdünnungsmethode in ihren vielen Modifikationen durch Einführung der statistischen Methoden vervollkommnet. Die darin erzielten Resultate veranlassen uns zur näheren Besprechung der quantitativen Auswertung der Coli-Titerbestimmung.

Es sei bemerkt, daß kürzlich Demeter (2, 3) und Wilson (11) den Coli-Titer an die Verdunnungsmethode anknüpften. Diese Forscher benutzten die McCradys Tabellen (8), die uns die wahrscheinliche durchschnittliche, aus der Verdünnung abgelesene, Anzahl der Keime pro Volumeneinheit angeben. Diese Tabellen darf man heute nicht als ganz maßgebend ansehen, infolge der Vernachlässigung des Gesetzes der kleinen Zahlen (1) durch McCrady, welchem Gesetze — was in einer Anzahl von Arbeiten (5, 7, 12) festgestellt wurde — auch die gut vermischte Suspension der Keime

unterliegt. Außerdem hat die Bestimmung der wahrscheinlichen durchschnittlichen Zahl nur dann ihren Wert, wenn diese Bestimmung mit hinreichender Genauigkeit ausgeführt wird. Im Gegensatz dazu ergibt die Verdünnungsmethode — was auch Wilson mit vollem Recht ausdrücklich betont — keine genauen Ergebnisse, auch in dem Fall nicht, wenn man eine relativ große Anzahl der Kolbchen anwendet. Deshalb sind wir völlig mit der vom letztgenannten Forscher ausgesprochenen Meinung einverstanden: „The report should then be issued, not in terms of the probable number of coliform organisms per ml., which may be very misleading to those who unaware of the experimental errors involved, but as „above standard" or "below standard"."

Die eigentliche Bearbeitung der quantitativen Ergebnisse der Verdünnungsmethode, unterstützt durch experimentelles Material, erfolgte durch Halvorson und Ziegler (4, 12), die Verfasser (5, 9) und die Verfasser mit Neyman (6). Die folgende Auswertung des Coli-Titers gründet sich hauptsächlich auf diese letztere Arbeit, die die Genauigkeit der Ergebnisse charakterisiert.

II. Die unmittelbaren Ergebnisse des Coli-Titers.

Bei dem einfachsten Verfahren, d. h. bei einmaliger Aussaat der untersuchten Flüssigkeit in Mengen z. B. 1 ml, 0,1 ml, und 0,01 ml in drei Gärkolbchen, besteht die Möglichkeit, folgende Ergebnisse zu erhalten (es bezeichnet + das Auftreten, — die Abwesenheit der B. coli):

	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	Es wird angenommen anwesend in
a)	+	+	+	0,01 ml
	+	+	—	,, ,, 0,1 ,,
	+	—	—	,, ,, 1 ,,

seltener erhalten wir:

b)	+	—	+	
	—	+	—	?
	—	—	+	

Bei richtigerer Arbeitsweise, wenn man jede Verdünnung der zu untersuchenden Flüssigkeit in zwei parallele Kölbchen aussät, sind folgende Fälle möglich:

	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	Es wird angenommen anwesend in
a)	+ +	+ +	+ +	0,01 ml
	+ +	+ +	— —	,, ,, 0,1 ,,
	+ +	— —	— —	,, ,, 1 ,,

wir erhalten auch folgende Einreihungen:

b)	+ +	+ —	+ —	
	+ —	+	+ —	?
	+ —	+ —	— —	
		usw.		

seltener folgende:

c)	— —	+ —	— —	
	+ —	— —	+ —	?
	+ +	— —	+ +	
		usw.		

Es sei vor allem festgestellt, was man unter der Bezeichnung: „B. coli anwesend in einer gewissen Volumeneinheit" versteht. Es besteht, unserer Meinung nach, nur eine einzige Interpretation des obengenannten Ausdruckes: „die durchschnittliche Anzahl der B. coli in dieser Volumen-

einheit ist wahrscheinlich nicht kleiner als 1", da wir nicht gerade berechtigt sind, irgendeine Bruchzahl als Grenzwert anzuerkennen. Dementsprechend enthält wahrscheinlich diejenige Volumeneinheit, die wir als frei von B. coli annehmen, weniger als ein einziges Bakterium. Es ist einleuchtend, daß das Auftreten des B. coli in einer gewissen Dosis der untersuchten Flüssigkeit immer zufällig ist, findet aber dieser Zufall statt, so ist er mindestens durch ein Bakterium hervorgerufen.

Stützen wir uns auf die (korrekten) Tabellen, so erhalten wir zwar für eine gewisse Einreihung der Kölbchen irgendeine durchschnittliche Zahl der Keime, aber wir trauen dieser Zahl so wenig, daß uns noch die Überzeugung fehlt, ob unsere Beurteilung richtig ist. Z. B. beträgt die wahrscheinliche durchschnittliche Zahl 0,2 in 1 ml, so kann sie in der Tat ebensogut gleich 3,5 sein. Im ersten Fall werden wir B. coli als abwesend in 1 ml betrachten, im zweiten — als anwesend. Im folgenden Kapitel werden wir den Beweis liefern, daß der wirkliche durchschnittliche Wert in viel weiteren Grenzen schwanken kann, als wir oben, beispielsweise, angegeben haben.

Falls wir uns direkt auf die Ergebnisse der Untersuchung stützen, so taucht bei uns das Bedenken in den Fällen der Einreihungen b und c auf. Wie soll man z. B. folgendes Ergebnis verstehen:

++ +— +— und +— —— +— ?

Wir sind geneigt anzunehmen, daß man in den beiden Fällen B. coli als anwesend in 0,01 ml betrachten soll, da die Bakterien in dieser Verdünnung sowohl im ersten, als auch im zweiten Versuche, auftreten.

Andererseits beweist uns das Auftreten der Bakterien in vier Kölbchen, gegenüber dem Auftreten in zwei Kölbchen, daß wir es im ersten Fall mit stärker infizierter Flüssigkeit zu tun haben. Es sei bemerkt, daß das Auftreten der Bakterien in den Einreihungen der Kölbchen des Typus c und besonders b gar nicht so selten ist. Diese Einreihungen dürften nicht allein in der Unterdrückung des B. coli durch etwaige andere Kleinlebewesen ihre naheliegende Erklärung finden. Anläßlich der statistischen Bearbeitung der Verdünnungsmethode, haben wir mit Hilfe der Tippetts Tabellen (10) eine spezielle Analyse durchgeführt, die uns Hinweise dafür lieferte, wie häufig in einzelnen Kölbchen die Keime gleichartiger Suspension auftreten. Diese Häufigkeit hängt von der durchschnittlichen Anzahl der Keime ab, und zwar, bekommen wir bei der durchschnittlichen Anzahl von 5 pro 1 ml, und bei der Aussaat von jeder Verdünnung (1 ml, 0,1 ml, 0,01 ml) in je zwei Kölbchen, folgende Resultate:

die Einreihung der Kölbchen			in ca. % der Fälle
++	+—	——	44,67
++	——	——	31,83
++	++	——	12,33
++	+—	+—	3,83
++	——	+—	2,83
++	++	+—	2,67
+—	+—	——	0,83
++	——	++	0,50
++	+—	++	0,17
+—	++	——	0,17
++	++	++	0,17

Daraus folgt, daß bei derselben Durchschnittszahl der Keime ihr Auftreten in den einzelnen Verdünnungen sehr verschieden ist, was uns beweist,

daß dieses Auftreten in einer gewissen Verdunnung keine richtige Beurteilung des Coli-Titers gestattet.

III. Die eigentliche Auswertung des Coli-Titers.

Die statistische Bearbeitung der Ergebnisse der Verdunnungsmethode fuhrte uns zur exakt motivierten Schlußfolgerung, daß bei der Aussaat einer Suspension, die eine bestimmte Durchschnittszahl der Keime pro 1 ml hat, die Gesamtzahl der infizierten Kolbchen (gleichgultig aus welchen Verdünnungen) bei gewisser konstanter Zahl schwanken wird. Mit anderen Worten, es ist zweifellos viel richtiger, die Stärke der Infektion der untersuchten Flüssigkeit auf Grund der Zahl aller Kolbchen, die auf die Anwesenheit der Bakterien hinweisen, zu beurteilen, als auf Grund des Auftretens der Bakterien in bestimmter Verdunnung. Es entsprechen also wahrscheinlich die Ergebnisse: + — + — + — und ++ + — — — einer ähnlichen Infizierung, in Gegensatz dazu entsprechen die Ergebnisse: — — + — + — und ++ ++ + — verschiedenem Infektionsgrade, obgleich in den zwei letzten Fällen die Bakterien in denselben Verdunnungen auftreten.

Es erhebt sich jetzt die Frage, wie man auf Grund der Anzahl der infizierten Kölbchen die Stufe der Infizierung der untersuchten Flüssigkeit beurteilen soll. Die Antwort auf diese Frage liefert uns die statistische Analyse der Genauigkeit der Verdunnungsmethode, ausführlich begründet in der bereits erwähnten Arbeit (6).

Diese Genauigkeit war durch die Berechnung der Wahrscheinlichkeitsintervalle für die durchschnittliche, aus der Summe der infizierten Kolbchen, erhaltene Zahl der Keime pro Volumeneinheit, charakterisiert. Die Wahrscheinlichkeitsintervalle berechneten wir unter Benutzung des Wahrscheinlichkeitskoeffizientes 0,05, was bedeutet, daß die Überschreitung dieser Intervalle durchschnittlich nicht häufiger vorkommen wird, als 5 mal bei 100 ausgeführten Untersuchungen. Bei einem solchen Verfahren kommt man, wenn man zwei Kölbchen aus jeder zehnfach sich unterscheidenden Verdünnung z. B.: 1 ml, 0,1 ml, 0,01 ml aussät, zu folgenden Glaubwürdigkeitsintervallen (für 1 ml, d. h. für die größte Konzentration):

Die Gesamtzahl der Kolbchen, in welchen die Bakterien auftreten	Die Durchschnittszahl d. Bakterien kann in den Grenzen schwanken, die nicht haufiger als 5mal pro 100 uberschritten werden
0	0 — 1,66
1	0,01— 3,59
2	0,15— 16,8
3	0,58— 36,5
4	1,77—184,4
5	6,04—437,6
6	20,1 — ∞

Es ist ersichtlich, daß die Genauigkeit der Bestimmungen klein ist und die wahrscheinliche Durchschnittszahl der Keime in sehr weiten Grenzen schwanken kann. Kommen wir aber zur Frage zurück, die uns der Coli-Titer beantworten sollte, nämlich nicht zu der Frage wieviel von den Bakterien anwesend sind, sondern ob sie in einer gewissen Volumeneinheit sich befinden, dann liefern uns die zitierten Wahrscheinlichkeitsintervalle

ganz deutliche Angaben. Haben wir nur ein mit B. coli infiziertes Kölbchen, so wird in 95% der Fälle die Durchschnittszahl dieser Bakterien den Wert 3,6 pro 1 ml nicht überschreiten. Es kann jedoch bei zwei mit B. coli infizierten Kölbchen (gleichgültig in welchem) die Durchschnittszahl 16,8 pro 1 ml betragen. Infolgedessen kann sie 1,68 pro 0,1 ml sein und deswegen sollte der Coli-Titer angegeben werden als: B. coli anwesend in 0,1 ml, obgleich diese Bakterien in dieser Verdünnung nicht nachgewiesen wurden. Analog dazu, falls B. coli in 4 Kölbchen auftritt, muß man annehmen, daß es in 0,01 anwesend sein kann, weil die obere Grenze des Wahrscheinlichkeitsintervalles in diesem Fall 184,4 beträgt.

Diese Schlußfolgerungen stützen sich auf die wahrscheinliche maximale Keimzahl. Die minimalen Grenzen wurden vernachlässigt. Wir nehmen an, daß das richtig ist, weil bei der Beurteilung des Wassers bzw. der Milch, die Überschätzung der Zahl der Coli-Gruppe-Bakterien weniger gefährlich ist, als die Unterschätzung.

Tab. 1. Die Glaubwürdigkeitsintervalle für die Bakterienzahl bei Aussaat in 18 (3 × 6) und 30 (3 × 10) Kölbchen.

Die Gesamtzahl der Kölbchen, in welchen die Bakterien auftreten	Die Glaubwürdigkeitsintervalle	
	18 (3 × 6) Kölbchen	30 (3 × 10) Kölbchen
0	0 — 0,55	0 — 0,33
1	0,004— 0,91	0,002— 0,53
2	0,04 — 1,29	0,02 — 0,72
3	0,11 — 1,76	0,06 — 0,92
4	0,21 — 2,39	0,11 — 1,14
5	0,35 — 3,38	0,18 — 1,39
6	0,53 — 5,73	0,25 — 1,68
7	0,79 — 9,17	0,34 — 2,03
8	1,15 — 13,09	0,45 — 2,47
9	1,67 — 17,90	0,58 — 3,08
10	2,46 — 24,43	0,73 — 4,02
11	3,67 — 34,91	0,92 — 5,45
12	5,49 — 62,47	1,14 — 7,26
13	8,18 100,5	1,43 — 9,28
14	12,14 —146,8	1,79 — 11,53
15	18,19 —209,7	2,26 — 14,08
16	28,03 — 310,7	2,87 — 17,07
17	45,18 — 545,9	3,66 — 20,71
18	77,86 — ∞	4,67 — 25,41
19		5,94 — 31,99
20		7,53 — 42,79
21		9,49 — 59,88
22		11,96 — 81,33
23		15,15 —105,7
24		19,33 —133,8
25		24,98 —167,6
26		32,78 —210,7
27		43,68 —270,7
28		58,96 —368,1
29		81,01 —598,0
30		117,6 — ∞

Die Tab. 1 liefert uns noch die Wahrscheinlichkeitsintervalle für solche Fälle, wo wir je 6 oder je 10 Kölbchen aus jeder zehnfachen Ver-

dünnung anwenden. Das erlaubt uns einige Schlußfolgerungen zu verallgemeinern.

Die Vergrößerung der Anzahl der Kölbchen vergrößert auch naturgemäß die Genauigkeit der Bestimmungen. Nimmt man 18 (3 × 6) Kölbchen, so beweist erst die Infizierung von 8 Kolbchen, daß die Durchschnittszahl der Keime den Wert 10 überschreiten kann. Die Überschreitung des Wertes 100 ist erst möglich bei 13 infizierten Kölbchen. Die Anwendung von 30 (3 × 10) Kölbchen ergibt die Überschreitung der 10 Bakterien pro 1 ml bei 14 infizierten Kölbchen und 100 — bei 23. Wie wir oben erklärt haben, besteht, falls die rechte Seite des Wahrscheinlichkeitsintervalles den Wert 10 überschreitet, die Möglichkeit der Anwesenheit der Keime in der mittleren Verdünnung, bei Überschreitung des Wertes 100 — in der dünnsten Aussaat. Es ist selbstverständlich, daß uns die Aufstellung des Versuches mit 3 Kölbchen keine größere Genauigkeit liefert, als die Aufstellung mit 6 Kölbchen und infolgedessen beweist uns das Auftreten des B. coli nur in einem Kölbchen, daß die Möglichkeit seiner Anwesenheit in mittlerer Verdünnung besteht, ebenso das Auftreten in 2 Kölbchen — in der dünnsten Aussaat.

Es sei bemerkt, daß für den Fall der Anwendung von 30 (3 × 10) Kölbchen, Halvorson und Ziegler (4) fertige Tabellen bearbeitet haben, aus denen, nach gewisser Einreihung der infizierten Kölbchen, direkt die höchstwahrscheinliche Durchschnittszahl der Keime pro Volumeneinheit abgelesen werden kann. Unsere Analyse hat gezeigt, daß die Genauigkeit der Ablesungen aus diesen Tabellen etwas höher ist, als die Genauigkeit, die der Gesamtzahl der infizierten Kölbchen entspricht, obwohl nicht in einem solchen Grade, der uns zwingen müßte, die besprochenen Zahlenergebnisse zu ändern. Wir glauben, daß es sogar bei Anwendung der 30 Kölbchen, richtiger ist — um die Infizierung der untersuchten Flüssigkeit nicht zu unterschätzen — den Coli-Titer aus der oberen Grenze der Wahrscheinlichkeitsintervalle der Durchschnittszahl zu entnehmen, statt aus der Durchschnittszahl selbst.

IV. Praktische Schlußfolgerungen.

Die in den vorigen Kapiteln dargelegten Erwägungen liefern uns für die Laboratoriumspraxis ganz bestimmte Schlußfolgerungen. Wollen wir den Coli-Titer — bei Aussaat der zehnfachen Verdünnungen — aus dem Auftreten dieser Bakterien in einzelnen Kölbchen ablesen, so stützen wir uns auf die Gesamtzahl der Kölbchen, in welchen B. coli seine Anwesenheit aufweist, sehen dagegen ab von dem Auftreten der B. coli in einzelnen Verdünnungen.

Der Coli-Titer ist aus folgender Tab. 2 abzulesen.

Wie bekannt wird, zur Erhaltung positiver Versuchsergebnisse, vor der Aussaat häufig die untersuchte Flüssigkeit nicht nur einer dreimaligen sondern vier- bzw. mehrmaligen Verdünnung (z. B.: 100 ml, 10 ml, 1 ml, 0,1 ml usw) unterworfen. Wir können dann den Coli-Titer aus verschiedenen Serien ablesen:

100	10	1	0,1	0,01
++	+−	+−		

Welche dieser Serien soll als maßgebend anerkannt werden? Wir nehmen an, daß wir zwecks Vermeidung der Unterschätzung der Bakterienzahl,

Tab. 2. Die Coli-Titer-Ablesungen.

+ bedeutet, daß die Möglichkeit des Auftretens von durchschnittlich einem Bakterium in gegebener Verdünnung besteht.

Anzahl der ausgesäten Kölbchen	% der Kölbchen mit B. coli	Coli-Titer Verdünnungsverhältnis 1 a	0,1 a	0,01 a
3--12	< 33	+	—	—
(1 × 3 – 4 × 3)	33—66	+	+	—
	> 67	+	+	+
15 - 24	< 40	+	—	—
(5 × 3— 8 × 3)	40—69	+	+	—
	> 70	+	+	+
27—30	< 45	+	—	—
(9 × 3—10 × 3)	45—74	+	+	—
	> 75	+	+	+

diejenige Serie zur Ablesung auswählen werden, die uns die höchsten Ergebnisse liefert.

Es kann bei oben beschriebener Auswertung des Coli-Titers die Meinung auftauchen, daß uns die Vergrößerung der Anzahl der Kölbchen keinen Vorteil gibt. Das wäre aber nicht richtig. Bei Anwendung einer größeren Anzahl von Kölbchen wird seltener die Grenzzahl der Kölbchen vorkommen und wir werden deswegen seltener den, noch möglichen, Fehler in der Bestimmung des Infizierungsgrades begehen. Außerdem ist bei Anwendung von je 6 bzw. 10 Kölbchen für jede Verdünnung die Möglichkeit gegeben, den Coli-Titer mit größerer Genauigkeit abzulesen, indem die Anwesenheit des B. coli z. B. in 0,1 ml, 0,5 ml, 1 ml, 5 ml usw. unterschieden wird, was unter Anwendung der Glaubwürdigkeitsintervalle aus der Tab. 2 geschehen kann. Und noch eine Bemerkung: es kann den Anschein haben, daß unsere Auswertung des Coli-Titers nur eine Verschärfung der Beurteilungsskalen darstellt. Auch diese Meinung wäre nicht richtig. Die vorliegende Auswertung erlaubt uns das Wasser bzw. die Milch in bezug auf die Anwesenheit des B. coli zu beurteilen, ohne die systematischen Fehler zu begehen, die aus der Unkenntnis der Genauigkeit der Bestimmungen hervorgehen.

Zusammenfassung.

Die mathematisch - statistische Genauigkeitsanalyse der Keimzahlbestimmungen nach der Verdünnungsmethode, die die Verff. mit Neyman zusammen (6) in ihrer früheren Arbeit ausführlich begründet haben, wurde zwecks eigentlicher Auswertung des Coli-Titers, der bei der Beurteilung des Wassers bzw. der Milch benutzt wird, angewandt. Es wurden verschiedene Fälle des Vorkommens der mit B. coli infizierten Gärkölbchen geprüft, wobei die zu untersuchende Flüssigkeit in Zehner-Verdünnungen in eine bestimmte Anzahl paraleller Kölbchen ausgesät wurde. Es wurde die Tab. 2 bearbeitet, die uns die eigentlichen Coli-Titer-Ablesungen gestattet. Die Daten der Tabelle stützten sich auf die Wahrscheinlichkeitsintervalle der Durchschnittszahl der gesuchten Bakterien pro Volumeneinheit. Diese Ablesungen sind sehr einfach, da wir den Coli-Titer aus dem Vergleich der Anzahl aller mit B. coli infizierten Kölbchen zu der Gesamtzahl der ausgesäten Kölbchen erhalten.

Literatur.

1. Bortkiewicz, M., Das Gesetz der kleinen Zahlen. Leipzig 1898. — 2. Demeter, K. J., Milchwirtschaft. Zentralbl. Bd. 58. 1929. S. 261, 277, 293. — 3 Demeter, K. J., Sauer, F. und Miller, M., Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 265. — 4. Halvorson, H. O und Ziegler, N. R., Journ. of Bact. Vol. 25 1933 p. 101; Vol. 26. 1933. p. 331. — 5. Matuszewski, T., Przemysl Rolny. Bd. 9. 1932. S. 268. — 6. Matuszewski, T., Neyman, J. und Supinska, J., The Supplement to the Journ of the Royal Statistical Society. Vol. 2. 1935. p. 63. — 7. Matuszewski, T., Supinska, J. und Neyman, J., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 95. 1936. S 45. — 8 McCrady, M. H., Publ. Health Journ. Toronto. Vol. 9. 1918. p. 201. — 9. Supinska, J., Medycyna Dosw. i Spol. Bd. 18. H. 5/6. 1934. — 10. Tippett, L. H. C., Random Sampling Numbers. London 1927. — 11. Wilson, G. S, The Bacteriological Grading of Milk. London 1935. — 12. Ziegler, N. R. und Halvorson, H. O, Journ. of Bact. Vol. 29. 1935. p. 609.

Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung des Erregers der Bakterienwelke der Tomaten (Bact. michiganense E. F. S.).

[Aus der Biologischen Reichsanstalt fur Land- und Forstwirtschaft, Zweigstelle Aschersleben.]

Von H. Orth.

Mit 9 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

Die Bakterienwelke der Tomaten wurde im Jahre 1909 von E. F. Smith in Amerika entdeckt, der die Krankheit anfangs „Grand Rapids Disease", später „Bacterial canker of tomato" nannte und den Erreger als „Aplanobacter michiganense" beschrieb. Stapp (1928) fuhrte die Bezeichnung „Bacterium michiganense" in Anlehnung an das Migulasche System in Deutschland ein.

Während Smith (1920) „Bacterial canker" nur erst in den Staaten Michigan, New York und Massachusetts antraf, hat die Krankheit seit 1920 auf viele andere Staaten übergegriffen. In den USA. trat sie außer in den oben angeführten Fundorten auf in: Utah, Ohio, Pennsylvania, Connecticut, New Jersey, Illinois, Georgia, Montana, Washington, California, Wisconsin, Indiana, Mississippi, Maryland [Bryan (1930)], Delaware [Manns und Adams (1933)]; ferner in Australien [Magee (1935)]. In Britisch-Kolumbien (Kanada) wurde die Krankheit von McLarty (1925), in Italien von Peglion (1915) beobachtet. In Deutschland berichtete zuerst Kotte (1929, 1930) über das Auftreten des „Bakterienkrebses der Tomate" und machte auf die „katastrophale Angriffskraft gegenüber unseren Kulturen" aufmerksam.

Die Bakterienwelke in Deutschland, die Kotte noch 1930 „örtlich begrenzt" vorfand, hat in wenigen Jahren so um sich gegriffen, daß heute der Tomatenbau, der für viele gärtnerische Betriebe einen lebenswichtigen Faktor bildet, stellenweise schwer bedroht ist. Die vorliegende Arbeit machte

sich zur Aufgabe, die Lebensweise des Erregers näher kennenzulernen und Bekämpfungsmaßnahmen zu erarbeiten[1]).

II. Symptome und Verlauf der Krankheit.

Die von E. F. Smith gewählte Bezeichnung „Bacterial canker of tomato" entspricht, wie ebenfalls Kotte (1930) schon feststellte, wenig den typischen Symptomen der Krankheit, weil Gewebewucherungen an kranken Pflanzen in Deutschland bisher nicht beobachtet wurden; vielmehr ist das Abwelken zuerst von Teilen, später der ganzen Pflanze kennzeichnend für die Krankheit. Es soll daher im folgenden der von Kotte (1930) vorgeschlagene Ausdruck „Bakterienwelke der Tomate", der auch schon Eingang in die deutsche Fachliteratur gefunden hat, angewandt werden.

Die Krankheit beginnt mit tütenförmigem Einrollen und Abwelken einzelner Fiederblättchen, das auffallenderweise oft einseitig erfolgt (siehe Abb. 1 und 2). Dieses anfangs einseitige Welken, das auch aus Amerika [Bryan 1930] berichtet wird, ist typisch für diese Bakteriose und gestattet in Zweifelsfällen häufig eine Unterscheidung von physiologisch bedingten Welkeerscheinungen. Auf dem Felde kann man die Bakterienwelke nach einiger Übung erkennen, wenn man ein Fiederblättchen, das gerade zu welken beginnt, abschneidet und mit leichtem Druck in Richtung auf die Schnittstelle zu den Inhalt der Leitbündel herausquetscht. Handelt es sich um ein bakterienkrankes Blättchen, so tritt an der Schnittstelle ein gelbes Schleimtröpfchen aus. Die Brauchbarkeit dieser Feld-Diagnose wurde im Sommer 1935 durch mikroskopische Nachprüfung von 50 Proben, die sämtlich die Feldbestimmung bestätigten, geprüft. Bei Beurteilung von kranken Beständen im Felde, namentlich bei beginnender Krankheit, wurde diese Methode immer mit herangezogen. Gerade das frühzeitige Erkennen der Bakterienwelke ist für die zu treffenden Bekämpfungsmaßnahmen von großer Bedeutung, wie später noch ausgeführt werden wird.



Abb. 1. Beginn der Welkeerscheinung an einem kranken Fiederblatt.

Das Fortschreiten der Krankheit an den vegetativen Teilen, die starke Verfärbung der Gefäße und schließlich das Absterben der Tomatenpflanze hat Kotte (1930) so eingehend beschrieben, daß eine Wiederholung der mit seinen Beobachtungen völlig übereinstimmenden Befunde hier überflüssig erscheint.

[1]) Die Arbeiten wurden auf Betreiben der Gärtner (Fruchthof, Magdeburg) und der Zweigstelle der Biologischen Reichsanstalt in Aschersleben mit finanzieller Unterstützung des Reichsministeriums für Ernährung und Landwirtschaft durchgeführt.

Da die Leitbündel infiziert werden, dringen die Bakterien auch in die Gefäße der Früchte und Samen ein, und in vielen Fällen wird der Embryo im Samen unvollkommen entwickelt oder auch von den Erregern zerstört. Häufig erkennt man am Hilum des Samens einen braun bis schwarz gefärbten Fleck. Bryan (1930) beschreibt neben dieser „inneren" Infektion der Früchte eine als „bird's-eye spot" bezeichnete Erkrankung der Fruchtschale, die der durch Pseudomonas vesicatoria Do. verursachten Fleckenkrankheit der Tomate ähnelt. In den bisher untersuchten Beständen trat die „Vogelaugenflecken-Krankheit" auch in sehr kranken (80—100% Befall) Feldern nicht auf; es wurden daher Infektionsversuche mit Bact. michiganense nach der von Bryan (1930) angegebenen Methode ausgeführt.



Abb. 2. Einseitiges Welken nach künstlicher Infektion am Hauptsproß in Höhe des ersten Blattes.

Als Infektionsmaterial diente eine Bakterienaufschwemmung, die durch Abschütteln 3 Tage alter Agar-Schrägkulturen mit je 4 ccm Wasser erhalten wurde. Um die Infektionsmöglichkeit zu erhöhen, wurde eine Mischung von 14 auf ihre Virulenz geprüften Bakterienstämmen (siehe später), die aus verschiedenen Gebieten innerhalb Deutschlands stammten, zur Infektion der Früchte verwandt. Je 10 unreife Früchte wurden gut abgewaschen und nach dem Abtrocknen, wie Bryan (1930) beschrieben hat, nach folgenden Methoden infiziert:

1. Mit einem Wattebausch, der mit der Bakterienaufschwemmung getränkt worden war, wurden die Früchte betupft.

2. In Nachahmung der „spray-inoculation" wurde mit einer feinen Pipette die Aufschwemmung auf die Früchte getropft.

Die so infizierten Früchte wurden sowohl unter feucht als auch unter trocken gehaltenen Glocken aufbewahrt.

Neben den oben angeführten Versuchen, bei denen die Fruchtschale unverletzt blieb, wurden 10 Früchte angestochen und dann infiziert.

Nach 15 Tagen — Bryan (1930) stellte schon nach 5 Tagen deutlichen Infektionserfolg fest — ergaben unsere Versuche, daß bei den nach 1. und 2. infizierten Früchten keine „Vogelaugenflecke" auf der Fruchtschale aufgetreten waren; die nach Verletzung der Schale infizierten Früchte zeigten in 3 Fällen gelbe Verfärbungen um die Einstichstelle herum; die Bakterien konnten mikroskopisch nachgewiesen werden. Nach diesen Ergebnissen scheint dem Bact. michiganense ein Eindringen in die Fruchtschale nur an verletzten Stellen möglich zu sein; die unverletzte Fruchtschale bietet nach unseren Beobachtungen und Versuchen

dem Bact. michiganense nicht die Möglichkeit zur Infektion, so daß auch im Freilande das Fehlen der „Vogelaugenflecken“ an den Früchten erklärlich erscheint. Es sei erwähnt, daß Bryan (1930) vergleichende Infektionsversuche mit Ps. vesicatoria ausführte: Die durch Ps. vesicatoria hervorgerufenen Fruchtflecken sind von einem wäßrigen, die durch Bact. michiganense verursachten von einem weißen Hof umgeben. [Siehe die farbigen Abbildungen in der Zusammenstellung von Ramsey und Link (1932), die die Unterschiede gut erkennen lassen.]

III. Vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Stämmen des Bact. michiganense.

Das „normale“ Kulturverhalten und die morphologischen Eigenschaften des Bact. michiganense sind von Bryan (1930), Kotte (1930) und Stapp (1930) ausführlich beschrieben worden, so daß sich eine nochmalige Darstellung hier erübrigt; es sollen daher nur einige Versuche, deren Ergebnisse z. T. von denen der genannten Autoren abweichen, mitgeteilt werden.

Fawcett und Bryan (1934) berichten, daß in Amerika Stämme des Bact. michiganense gefunden wurden, die sich in der Farbe und Form der Kolonien auf Agar unterschieden; die Virulenz dieser Variationen war verschieden: Die gelb wachsenden Bakterienkulturen waren den weiß und rötlich aussehenden überlegen. Stapp (1930) fand ebenfalls, daß die Virulenz von schwach gelben, schleimig wachsenden geringer war als die der gelben, nicht schleimigen Stämme.

Da zwischen Stämmen verschiedener Herkunft Virulenz-Unterschiede bei Vorversuchen auftraten, wurden 14 aus verschiedenen Gegenden Deutschlands stammende Reinkulturen in ihrem Verhalten auf künstlichen Nährböden, ihrer Neigung zu teratologischen Veränderungen und ihrer Virulenz geprüft. In Tab. 1 sind die Stämme angegeben.

Tab. 1. Bezeichnung, Herkunft und Alter der Bakterienstämme.

Nr.	Bezeichnung	Herkunft	Isoliert im Jahre
I	B. mich. I	aus England	1924
II	B. mich. II	Gerwisch (Bez. Magdeb.) östlich der Elbe	1933
III	Potsdam	Krampnitz (Bez. Potsdam)	1935
IV	Stapp	Magdeburg	1932
V	Bo 33	Aus Boden in Gerwisch isoliert, in dem 1933 kranke Pflanzen vergraben worden waren	1935
VI	Bo 34	ebenso, aber 1934 kranke Pflanzen vergraben	1935
VII	D. M.	Altenweddingen (Bez. Magdeb.), westlich der Elbe	1935
VIII	Paulshof	Moser (Bez. Magdeb.), östlich der Elbe	1936
IX	Stendal	Stendal (Altmark)	1935
X	Karlsruhe	Karlsruhe	1935
XI	St. II 5	Reisolation aus kranker Pflanze, die mit B. mich. II infiziert worden war	1935
XII	Moser	Moser (Bez. Magdeb.), östlich der Elbe	1935
XIII	Heidhof	Dömitz (Mecklenburg)	1935
XIV	Zerbst	Zerbst (Anhalt)	1936

Die morphologischen Unterschiede innerhalb dieser 14 Stämme[1]) wurden mit 48 Std. bei 26° C auf Bouillonagar (1%) gewachsenen Kulturen nach

[1]) Im folgenden Text werden die Stämme nur mit den in Tab. 1 angegebenen Nummern angeführt werden.

Gramfärbung von Ausstrichen festgestellt. Die Stämme III, V, VI, VII, VIII, IX, XI, XII, XIII und XIV hatten „normale" Kurzstäbchen (bis 1,5 μ lang und bis 0,5 μ breit). Dagegen herrschten bei den Stämmen I, IV und X kleine, kugelige Formen („kokkoide") vor. Der Stamm II zeigte Langstäbchen (2 μ lang, 0,3 μ breit), die z. T. in Kugeln zerfielen.

Die mitgeteilten Untersuchungen sind an gramgefärbtem Material durchgeführt worden; es ist immerhin die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die beobachteten morphologischen Veränderungen Folge der Behandlung bei der Färbung sind und nicht den natürlichen Verhältnissen bei Lebendmaterial entsprechen. Jedoch wurden in diesen vergleichenden Untersuchungen die kugeligen Formen bei vollständig gleicher Behandlung sämtlicher Präparate nur an den im Infektionsversuch als schwach virulent erwiesenen Stämmen I, IV und X beobachtet; auch konnten die gleichen morphologischen Unterschiede an nur mit Methylenblau gefärbten Ausstrichen festgestellt werden. Aus diesen Gründen durfte der Schluß auch aus den geschilderten Beobachtungen berechtigt sein.

Es waren also bei den frisch isolierten Stämmen, ausgenommen Stamm X, keine größeren morphologischen Unterschiede auf dem üblichen Nährboden zu beobachten. Da vermutet wurde, daß die kugeligen Formen Degenerationsformen seien, wurde eine Virulenzprüfung mit diesen Stämmen angesetzt, indem je 9 Tomatenpflanzen mit 48 Std. alten Bouillon-Agarkulturen infiziert wurden, und zwar von folgenden Stämmen: I, II, IV, X und XIV. Letzterer (XIV) diente als Vergleichsstamm, da er sich durch besonders regelmäßige Kurzstäbchen auszeichnete. Bevor die Kulturen verimpft wurden, fand eine Wiederholung der mikroskopischen Untersuchung statt, wobei wieder die gleichen Formunterschiede zu beobachten waren. Die Infektion wurde durch Anritzen des Sprosses und der untersten 3 Blattstiele mit einer Lanzettnadel, die in die gleichmäßig angesetzte Bakterienaufschwemmung getaucht wurde, ausgeführt.

Nach 10 Tagen traten die ersten, deutlich sichtbaren Welkeerscheinungen auf. Mit zunehmendem Befall fiel auf, daß nicht nur die Zahl der gewelkten Blätter sondern das Fortschreiten der Krankheit innerhalb der einzelnen Pflanze verschieden war: Die Stämme mit kokkenartigen Formen (I, IV, X) brachten die jüngsten Blätter viel später zum Welken als der „normale" Kontrollstamm XIV; der Stamm II mit seinen langen, z. T. zerfallenden Stäbchen nahm eine Mittelstellung zwischen den vorher genannten Typen ein. Aus dem Protokoll, in dem der Stand des Versuches in 1- bis 3tägigem Abstand aufgezeichnet wurde, seien nur 3 Daten, nämlich zu Beginn, Mitte und Ende der Versuchszeit, wiedergegeben (siehe Tab. 2).

Die einseitige Korrelation zwischen Gehalt der Stämme an atypischen Zellformen und Virulenz macht ursächliche Beziehung zwischen beiden Eigenschaften wahrscheinlich und legt die Deutung der abweichenden Formen als Degenerationsformen nahe. Ähnliche Erscheinungen sind auch für andere Bakterienarten beschrieben und in gleichem Sinne bewertet worden, so für Bac. amylobacter von Bucksteeg (1935); da bei Bact. michiganense sowohl schon länger in künstlicher Kultur befindliche als auch frisch isolierte Stämme das Auftreten abweichender Formen zeigten, kann diese Erscheinung nicht lediglich als Folge des Alters, sondern muß für den Stamm X als Stammeseigentümlichkeit gelten. Es sei bemerkt, daß aus den infizierten Pflanzen bei sämtlichen Stämmen nur die „normalen" Kurzstäbchen reisoliert werden konnten.

Tab. 2. Anzahl und Befallsstärke[1]) der erkrankten Pflanzen von je 9 infizierten.

Stamm:	I		II		IV		X		XIV	
	Anzahl	Befallsstärke	Anzahl	Befallsstärke	Anzahl	Befallsstärke	Anzahl	Befallsstärke	Anzahl	Befallsstärke
Nach 10 Tagen	2	0,22	4	0,55	2	0,22	2	0,33	6	1,55
„ 17 „	3	0,55	4	0,88	2	0,22	2	0,55	7	1,88
„ 28 „	6	2,33	7	2,0	4	1,33	3	1,22	8	3,33

[1]) Berechnet nach der bekannten Formel $\frac{a \cdot b \cdot c \cdot d}{n}$; a = 1 = Erstes Fiederblatt des infizierten Blattes welkt,
b = 2 = Erstes bis drittes Fiederblatt des infizierten Blattes welkt,
c = 3 = mehr als 3 Fiederblätter der infizierten Blätter welken,
d = 4 = Sproßspitze welkt,
n = Anzahl der Pflanzen; im gegebenen Falle = 9.

Die obengenannten Stämme ließen keine direkte Beziehung zwischen Intensität der gelben Farbe auf künstlichen Nährboden und Virulenz der Kulturen erkennen, sowohl auf verschiedenen Agar-Nährböden als auch auf sterilisierter Kartoffel. So z. B. bildete der schwach virulente Stamm X auf dem letztgenannten Substrat einen cadmium-gelben, nicht-schleimigen Belag, der sich von dem des hochvirulenten Stammes XIV nicht unterschied. Der ebenfalls schwach virulente Stamm IV dagegen wuchs hellgelb und schleimig, die Kartoffel wurde nur schwach grau gefärbt.

Die berichteten Versuche ließen schon gewisse Unterschiede, sowohl in den Formen als auch in ihrem Verhalten als Parasiten, erkennen. Um die zur Verfügung stehenden Stämme näher zu untersuchen, wurden sie auf verschiedenen Nährböden kultiviert. Dabei sollte namentlich die Neigung zur Teratologie auf nicht-optimalen Nährböden geprüft werden.

Die 14 Bakterienstämme wurden auf folgenden Nährböden kultiviert:

1. Bouillon-Agar 0,5%[1])
2. „ - „ 1%
3. Dextrose-Agar (B.-Agar + 1% Dextrose)
4. Möhren-Agar
5. Brown scher Agar
6. Bierwürze-Agar
7. Tomaten-Agar
8. Hafermehl-Agar
9. Malz-Agar
10. Kartoffel-Agar
11. Kirsch-Agar
12. Flüssige Bouillon
13. Sterilisierte Kartoffel

Sämtliche Agar-Nährböden wurden lackmus-neutral eingestellt. Die Versuche standen in einem elektrisch regulierten Thermostaten bei 26° C; der für Agarkulturen optimale Bereich wird von Stapp bei 24—28° C angegeben. Nach 48 Std. wurden Beschaffenheit und Farbe des Belages beurteilt; es bestanden zwischen den Stämmen nur geringe makroskopisch wahrnehmbare Unterschiede in der Farbe, Stärke und Schleimbildung des Belages (Einzelheiten mögen sich erübrigen). In keinem Falle traten Farbvarianten in dem Maße auf, wie sie von Fawcett und Bryan (1934) beschrieben wurden. Die Farbe schwankte zwischen hell- und cadmiumgelb; die Schleimbildung fand sich vornehmlich auf Tomaten-, Malz-, Bierwürze-, Möhren- und Dextrose-Agar.

Die mikroskopische Untersuchung[2]), die zunächst mit den Stämmen X, XII und XIV durchgeführt wurde, ließ beträchtliche morphologische Unter-

[1]) Enthält 0,5 g Fleischextrakt auf 100 ccm Flüssigkeit.
[2]) Es wurden jedesmal zwei Röhrchen untersucht.

schiede besonders deutlich auf Malz-, Bierwürze- und Dextrose-Agar erkennen; sie sind in der folgenden Übersicht (Tab. 3) gegenübergestellt.

Tab. 3. Morphologische Unterschiede der Stämme X, XII und XIV auf verschiedenen Nährböden

Stamm	Nährboden			
	Malz-Agar	Bierwürze-Agar	Dextrose-Agar	Bouillon-Agar
X	Unregelmäßig angeschwollene, gekrümmte Formen; keine Stäbchen	Dicke lange Stäbchen 0,8—2 μ × 0,3—0,5 μ	Sehr gut entwickelte Stäbchen 0,8—1 μ × 0,3—0,4 μ	„Normale" Kurzstäbchen 0,5—1 μ × 0,3—0,4 μ
XII	Dick, eiförmig, doch nicht unregelmäßig	Stark verzweigt; s. Abb. 3	z. T. verzweigt, z. T. kugelig angeschwollen, kaum Stäbchen	wie oben
XIV	Dicke, fast runde Formen mit z. T. undeutlichen Konturen	Lange Stäbchen (bis 2 μ)	„Normale" Stäbchen	wie vorher

Die Veränderungen bestehen in kugeligem und eiförmigem Anschwellen, Verdicken, Vergrößern und Verzweigen der Bakterienstäbchen. Starke Verzweigungen zeigte Stamm XII auf Bierwürze-Agar (siehe Abb. 3).

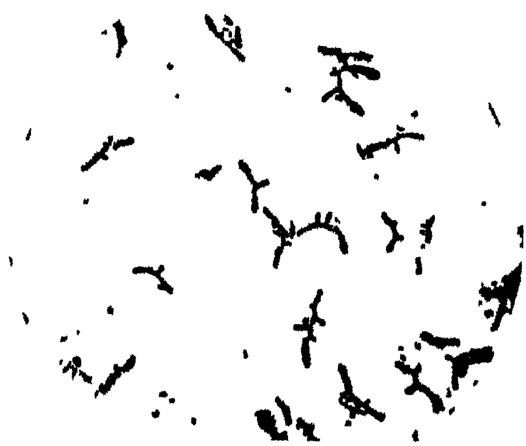


Abb. 3. Stamm XII auf Bierwürze-Agar nach 3 Tagen bei 26° C. Vergrößerung: 1300fach.

Von den folgenden Untersuchungen der übrigen Stämme seien nur in großen Zügen die Hauptergebnisse wiedergegeben:

1. Es gibt Stämme, die sich auf vorgenannten Nährböden wenig verändern (verglichen mit den „normalen" Formen auf Bouillon-Agar); es sind dies: II, IV, VI, VIII, IX, XI, XIII.

2. Stämme mit starker Neigung zu atypischer Veränderung (kugeliges Anschwellen, Verzweigen, undeutliche Konturen): Stamm I (verzweigt sich auf Tomaten- und Dextrose-Agar; auf Malz- und Bierwürze-Agar zerfallend); Stamm III (auf Bierwürze-Agar zerfallend); Stamm VII (verzweigt sich wie XII); Stamm V (bis 4 μ lange, aufgeblähte Formen, siehe Abb. 4).

Die atypischen Formen sind als pathologische Veränderungen zu werten (siehe auch spätere Infektionsversuche); Bucksteeg (1935) fand, daß die Degenerationsformen von Bac. amylobacter, die z. B. durch Einfluß von Lithiumchlorid entstanden, bei Rückimpfung auf normalen Nährboden verschwanden, so daß die neue Kultur aus normalen Stäbchen bestand. Die Rückbildung zu den auf Bouillon-Agar gebildeten „Normalformen"

konnte in ähnlichen Versuchen mit Bact. michiganense bestätigt werden, und zwar trat sie nach Überimpfung der atypischen Kulturen auf Bouillon-Agar bei allen Stämmen gleichmäßig auf. Abb. 5 gibt die Rückimpfung des auf Bierwurze-Agar stark verzweigten Stammes XII wieder.

Impfte man die „normalen" Kulturen zum zweiten Male auf Bierwurze-Agar, so trat die Teratologie bei allen Stämmen verstärkt auf. Der vorhin erwähnte Stamm XII z. B. veränderte sich jetzt so stark, daß nach 3 Tagen irgendwelche Konturen nicht mehr erkannt werden konnten; es war vollkommene Auflosung der Formen eingetreten.

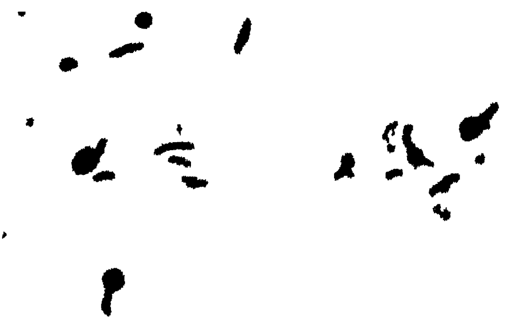


Abb. 4.

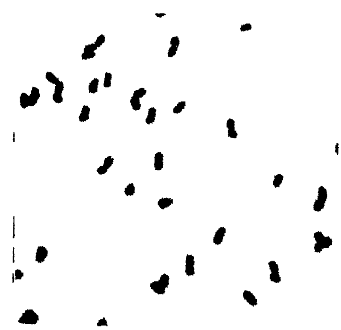


Abb. 5.

Abb. 4. Stamm V auf Bierwurze-Agar nach 7 Tagen bei 26° C. Vergroßerung: 1300fach.

Abb. 5. Stamm XII von Bierwurze- auf Bouillon-Agar zuruckgeimpft; nach 2 Tagen bei 26° C. Vergroßerung: 1300fach.

Um die Virulenz der atypischen Formen zu prufen, wurden 2 Stämme (VII und IX), die sich in ihrer Neigung zur Teratologie bei den vorher berichteten Versuchen sehr stark unterschiedlich gezeigt hatten, auf Bouillon-, Dextrose- und Bierwürze-Agar herangezogen. Mit 3 Tage alten Kulturen, die vorher mittels der Gramfärbung mikroskopisch untersucht worden waren, wurden je 8 Tomatenpflanzen infiziert. Den Verlauf der Infektionen gibt Tab. 4 wieder:

Tab. 4. Anzahl der erkrankten Pflanzen von je 8 infizierten.

Kranke Pflanzen nach:	Bouillon-Agar		Dextrose-Agar		Bierwurze-Agar	
	St. VII	St. IX	St. VII	St. IX	St. VII	St. IX
9 Tagen	1	3	1	6	0	4
14 „	1	5	1	7	1	7
16 „	1	6	2	8	3	8
23 „	7	7	5	8	4	8
35 „	8	8	6	8	7	8
42 „	8	8	8	8	7	8

Es ist deutlich ersichtlich, daß der zur Teratologie neigende Stamm VII von Anfang des Versuches an schwächer virulent als der „konstante" Stamm IX ist; die Art des Nährbodens wirkte sich im vorliegenden Versuch nicht aus, doch ist es, wie Stapp (1930) bei seinen Untersuchungen mit Bact.

sepedonicum fand, nicht angebracht, Nährböden, die zu starker Veränderung der Bakterien führen, für die Dauerkultur zu verwenden. (Die vorher berichteten Ergebnisse ließen ja erkennen, daß bei wiederholter Kultur auf nicht „zusagendem" Nährboden schließlich Auflösung der Formen erfolgt.) Es sei wieder erwähnt, daß auch bei diesen Versuchen aus den infizierten Pflanzen immer nur das „normale" Kurzstäbchen isoliert wurde.

Einfluß von Natriumchlorid. Bryan (1930) stellte fest, daß Bact. michiganense sehr empfindlich gegen Natriumchlorid war, und zwar wurde das Wachstum schon durch Zusatz von 1% NaCl gehemmt, bei 3% erfolgte keine Entwicklung mehr. Dagegen beobachtete Stapp (1930), daß noch auf 10% NaCl enthaltendem Agar makroskopisch erkennbares Wachstum eintrat. Da beide Autoren nicht mit den gleichen Stämmen gearbeitet haben — die Unterschiede in der Methodik sind relativ gering —, so wurde eine nochmalige Untersuchung eingeleitet, da nach den vorher berichteten Versuchen erhebliche Unterschiede zwischen einzelnen der zur Verfügung stehenden Stämme des Bact. michiganense in der Empfindlichkeit gegenüber extremen Bedingungen bestanden.

Die Versuche wurden mit den Stämmen II, III, IV, V, VII und IX auf Kartoffelagar mit 1, 3, 5, 7 und 10% NaCl-Zusatz durchgeführt. Nach 3 Tagen (26° C) wurden die Kulturen zum ersten Male nach Entwicklung des Belages beurteilt (siehe Tab. 5).

Tab. 5. Stärke[1]) des Belages nach 3 Tagen auf NaCl-Agar.

Stamm	Kartoffelagar + NaCl in %				
	1	3	5	7	10
II	3	3	2	2	1
III	3	2	2	2	1
IV	3	3	2	2	1
V	3	3	3	3	1
VII	3	3	3	1	1
IX	3	3	3	1	1

Neben der makroskopischen Prüfung, die schon Unterschiede zwischen den Stämmen zeigte, wurden alle Kulturen nach 3 und 14 Tagen mikroskopisch untersucht; es bestätigte sich die Beobachtung, daß die Stärke und Art der teratologischen Veränderung gegenüber steigenden Gaben von NaCl bei den Stämmen verschieden ist. Von den (nach 3 Tagen) angefertigten Zeichnungen[2]) seien die der Stämme II und IX wiedergegeben (siehe Abb. 6 a—e und 7 a—e), die die unterschiedliche Reaktion erkennen lassen.

Nach 14 Tagen hatten sich die Bakterien noch stärker verändert, z. T. trat Auflösung ein (siehe Tab. 6).

Die Angabe von Bryan (1930), daß schon 1% NaCl einen hemmenden Einfluß ausübe, ist erklärlich, denn auch in vorliegenden Versuchen wurde der hochempfindliche Stamm II durch 1% NaCl nach längerer Zeit (siehe Tab. 6) zu teratologischen Formveränderungen veranlaßt.

[1]) 0 = nichts
1 = nicht deutlich erkennbar } gewachsen.
2 = schwach
3 = gut

[2]) Ölimmersion 120, Okular 10 (Zeiss); Abbescher Zeichenapparat.

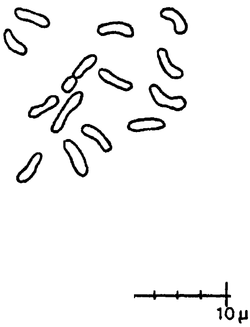


Abb. 6a. 1%.

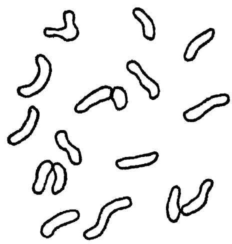


Abb. 6b. 3%.

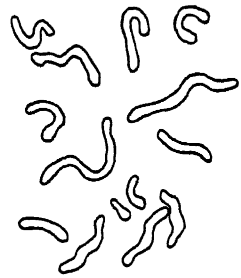


Abb. 6c. 5%.

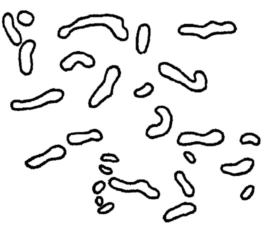


Abb. 6d. 7%.

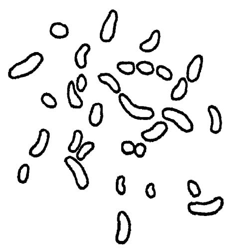


Abb. 6e. 10%.

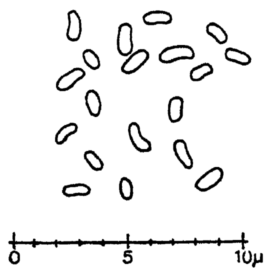


Abb. 7a. 1%.

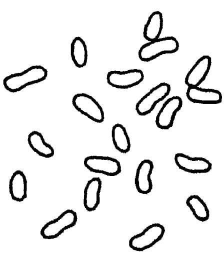


Abb. 7b. 3%.

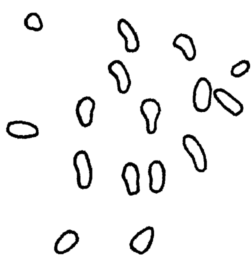


Abb. 7c. 5%.

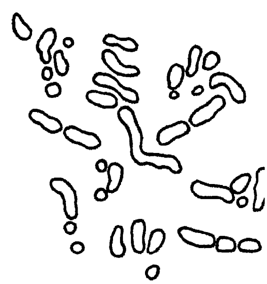


Abb. 7d. 7%.

Abb. 6 a—e. Wirkung von Natriumchlorid nach 3 Tagen bei 26° C. Farbung: Methylviolett. Stamm II.

Abb. 7 a—e. Wirkung von Natriumchlorid nach 3 Tagen bei 26° C. Farbung: Methylviolett. Stamm IX.

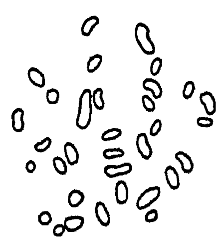


Abb. 7e. 10%.

Tab. 6. Einfluß von NaCl. Nach 14 Tagen bei 26° C (Färbung Methylviolett).

St	Konzentrationen NaCl in %				
	1	3	5	7	10
II	Vereinzelt Stäbchen, meist aufgelöst	Einige gekrümmte Stäbchen, meist aufgelöst	Gewundene Fäden, die sich unregelmäßig färben	Aufgelöst; keine Konturen zu erkennen	Neben ungefärbten Teilchen gekrümmte Stäbchen
III	„Normale" Kurzstäbchen; z. T. rund	Stark verzweigt, unregelmäßig gefärbt; z. T. aufgelöst	Aufgelöst, keine Konturen zu erkennen	Wie bei 5%	Neben ungefärbten Teilchen fast „normale" Stäbchen
IV	Wie St. III	Runde, sehr kl. Körperchen, selten Stäbchen	Kugeln, z. T. undeutliche Konturen	Wie St. III	Wie St. III
V	Wie St. III	Kurze, abgerundete Stäbchen	Angeschwollene Stäbchen neben ungefärbten Körperchen	Wie St. III	Wie St. III
VII	Wie St. III	Wie St. V	Stäbchen lang; z. T. aufgelöst	Wie St. III	Nur vereinzelt Stäbchen erkennbar; meist aufgelöst
IX	Wie St. III	Wie St. V	Wie St. V	Wie St. V	Wie St. V

Demgegenüber konnten die Befunde Stapps (1930), daß sogar bei 10% NaCl noch Wachstum eintrat, bestätigt werden. Die untere Grenze der Wirksamkeit wurde für die meisten Stämme bei 3%, für den Stamm II bereits bei 1% NaCl gefunden. Diese und die höheren Konzentrationen 5 und 7% bewirkten starke Veränderungen der Zellformen; auffällig war die Beobachtung, daß dagegen bei 10% NaCl die Veränderung des mikroskopischen Bildes bei starker Hemmung des makroskopisch sichtbaren Wachstums gering war (siehe Tab. 6). (Ob diese Erscheinung auf eine Auslese bevorzugt resistenter Formen zurückzuführen ist, oder ein Symptom stärkster Schädigung darstellt, kann nach den vorliegenden Versuchen nicht entschieden werden.)

Die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien wurde durch die Konzentration 10% NaCl wesentlich herabgesetzt. Versuche, von den auf 10% NaCl gewachsenen Kulturen auf normalen Nährboden zurückzuimpfen, mißlangen für den Stamm II völlig, während bei 5 Stämmen erst nach 18 Tagen deutlich sichtbares Wachstum erfolgt war.

Abhängigkeit der Virulenz vom p_H-Wert des Nährbodens.

Das Wachstum des Bact. michiganense auf lakmusneutralem Bouillon-Agar geht langsam vor sich. Kotte (1930) beobachtete wesentlich bessere Entwicklung auf schwach alkalischen Nährböden. Stapp (1930) bezeichnet den Bereich von p_H 7,0—8,4 als optimal; bei seinen Infektionsversuchen waren schon nach 4—6 Tagen unter günstigen Bedingungen im Gewächshaus die ersten Symptome der Krankheit festzustellen: In unseren Versuchen trat nur in Ausnahmefällen so früh, im allgemeinen nämlich erst nach 10 Tagen, äußerlich sichtbares Welken ein. Es sollte daher nachgeprüft

werden, ob durch Änderung im p_H-Wert des Nährbodens sich Unterschiede im Verlauf der Infektionsversuche zeigten.

Die Agarversuche wurden mit 5 Stammen auf Bouillon-Agar mit den kolorimetrisch bestimmten p_H-Werten 5,4, 6,4 und 7,4 angesetzt. In der Entwicklung des Belages waren sowohl makroskopisch wie mikroskopisch nach 3 Tagen nur geringfugige Unterschiede zu bemerken.

Die Infektionsversuche wurden mit 3 Tage alten Kulturen von 3 Stämmen ausgefuhrt; die Inkubationszeit war innerhalb der p_H-Werte gleich; die Virulenz der Kulturen wurde also durch den p_H-Wert des Nährbodens nicht beeinflußt.

IV. Epidemiologische Untersuchungen.

In Deutschland wurde die Bakterienwelke bisher in Baden [Kotte 1930], in Hannover [Fischer 1932] und in der Saarpfalz [Kordes 1933] beobachtet; die Mitteilung von Jaenicke (1927) uber Auftreten des „Tomatenkrebses" in Gelsenkirchen ist wegen ungenugender Beschreibung des Krankheitsbildes wenig gesichert. Weitere Gebiete, in denen während unserer Arbeiten die Krankheit angetroffen wurde, sind: Provinz Sachsen (Magdeburg), Niederlausitz (Guben), Mecklenburg (Domitz), Brandenburg — Werder — Potsdam, Altmark (Stendal), Anhalt (Zerbst).

Die Bakterienwelke tritt vornehmlich auf leichten, meist sandigen Boden auf, wo die Bestände zur Zeit der Haupternte vollig abgestorben sein konnen. Kotte (1930) hob schon hervor, daß unsere Tomaten dieser Bakteriose „widerstandslos erliegen". Sie kann mit Recht als die gefährlichste Krankheit des Freiland-Tomatenanbaus auf leichten Boden bezeichnet werden.

Über die Verbreitung im Felde berichtet Bryan (1930), daß „No positive evidence of field spread of systemic infection by any agency has been obtained". Die Mitteilung von Coons (1918) und Williams (1928), daß die Übertragung von Pflanze zu Pflanze „by the pruning knife" erfolge, wurde von Bryan (1930) nicht anerkannt, da sie die Krankheit nicht beobachtete in solchen Feldern, in denen mit dem Messer ausgeschnitten wurde, „except in Mississippi, and there no convincing cases of spread were observed".

Smith (1920) vermutete, daß die Bakterien durch die Stomata der Blätter in die Pflanze gelangen und von dort aus bis zu den Hauptgefäßen vordringen. Als Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme führt Bryan (1930) an, daß in kranken Feldern von Georgia naturlich infizierte Blätter, aus denen das Bakterium isoliert werden konnte, gefunden wurden. Ferner gelang es „by spraying with Aplanobacter michiganense" Flecken auf der Oberseite unverletzter Blätter zu erzeugen (die der Arbeit beigegebenen Abbildungen weichen aber von dem Krankheitsbild der natürlich infizierten Blätter, deren Blattspreite stark zerstört ist, ab).

Die eigenen, während der Sommer 1935 und 1936 im Krankheitsgebiet um Magdeburg an Ort und Stelle durchgeführten Beobachtungen ergaben ein wesentlich anderes, den Befunden Bryans widersprechendes Bild von der Verbreitung der Bakterienwelke. Weitere Beobachtungen in anderen Anbaugebieten ließen erkennen, daß meist mehrere Pflanzen hintereinander erkrankten; es entstand der Eindruck, daß durch das Ausbrechen und Ausschneiden der überflussigen Triebe („Ausgeizen" genannt) die Bakterien von Pflanze zu Pflanze übertragen worden seien. Die alten Beobachtungen

von Coons (1918) und Williams (1928) scheinen demnach doch zu Recht zu bestehen; außerdem hat in neuerer Zeit Kordes (1933) auf die Verbreitung durch das „Ausgeizen“ aufmerksam gemacht.

In einem schwerkranken Bestande von etwa 25 000 Pflanzen, der später, am 29. 8. 35, einen Befall von 80,2% aufwies, wurde durch Auszahlen der bakterienwelken Pflanzen festgestellt, daß der Gesamtbefall innerhalb der Reihen im allgemeinen abhängig war von der Anzahl der Pflanzen, die zum Zeitpunkte der Untersuchung schon vollständig abgestorben waren. Einen Ausschnitt aus diesem Felde zeigt Abb. 8. Da uberdies viele Pflanzen hintereinander erkrankten, so daß häufig 30—40 Pflanzen zugleich abstarben, kann die Übertragung der Bakterien und damit die Verbreitung der Krankheit im Felde beim „Ausgeizen“, das reihenweise durchgeführt wird, erfolgt sein. Bact. michiganense scheint also durch die beim „Ausgeizen“ entstehenden Wunden in die Pflanze einzudringen (siehe spater). Man erkennt auch in vielen Fallen noch die nicht vernarbten Wunden — haufig in der Achsel zwischen Blattstiel und Hauptsproß —, durch die die Bakterien eindrangen; diese offenen Eingangsstellen waren manchmal bis 4 cm lang.

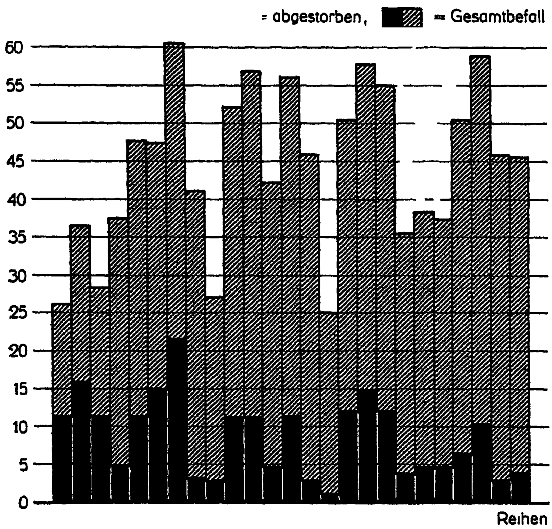


Abb. 8. Anzahl abgestorbener Pflanzen und Gesamtbefall innerhalb der Reihen.

Nach diesen Beobachtungen schien es angebracht, die von Bryan (1930) an unverletzten Blättern ausgefuhrten Infektionsversuche zu wiederholen, vor allem auch deswegen, weil im Freilande die von Bryan beschriebenen Blattflecken bisher nicht gefunden wurden; jedoch weder die Blattober- noch die Blattunterseite konnte durch Besprühen mit Bakterienaufschwemmungen erfolgreich infiziert werden; die Infektionen gelangen auch dann nicht, wenn die infizierten Pflanzen unter feucht gehaltenen Glocken standen.

In weiteren Versuchen wurde dem Erreger das Eindringen erleichtert, indem durch Bestreichen der Blattspreite mit einem Pinsel die Blatthaare verletzt wurden. Nach 70 Tagen (10 Tage ist die normale Inkubationszeit) wurden die Versuche abgebrochen, ohne daß eine der 10 infizierten Pflanzen abgestorben war. Doch zeigten einige Blätter Welkeerscheinungen, die nun eingehend mikroskopisch untersucht wurden, um zu ermitteln, wie weit die Bakterien vorgedrungen waren; in nachfolgender Übersicht sind die Befunde zusammengestellt (Tabelle 7).

Ein ähnlich schwacher Infektionserfolg wurde durch Bestreichen der Blattspreite mit einem Wattebausch, der mit Bakterienaufschwemmung getränkt war, erzielt. Diese und die oben genannten Versuche wurden wieder-

Tab. 7. Blattober- bzw. -unterseite mit Bakterienaufschwemmung bepinselt[1]).
Stand der Infektionen nach 70 Tagen.
Anzahl der infizierten Pflanzen je 5. der Blätter 30—35.

Pfl. Nr.	Oberseite	Pfl Nr.	Unterseite
1	In einem Blattstiel Bakt. nachweisbar	6	In einem Blattstiel Bakt. nachweisbar
2	In 2 Blattstielen Bakt. nachweisbar	7	Wie oben
3	Welken eines Fiederblattes; im Blattstiel keine Bakt. nachweisbar	8	Wie oben
4	Wie oben	9	Nur Blattflecken, kein Welken
5	Wie oben	10	In 2 Blattstielen Bakt. nachweisbar

[1]) Von jeder Pflanze wurden 6—7 Blätter infiziert.

holt mit der Änderung, daß die Pflanzen während der ersten 3 Wochen unter feucht gehaltenen Glocken aufgestellt wurden. Aber auch diese Versuche mußten nach 75 Tagen mit dem gleichen geringen Infektionserfolg abgebrochen werden.

Die von Bryan (1930) beobachtete Infektion unverletzter Blätter gelang, wie die oben berichteten Versuche zeigen, nicht; darüber hinaus konnte festgestellt werden, daß geringe Verletzungen, z. B. Abbrechen der Blatthaare, dem Bakterium wohl ein Eindringen ermöglichen, daß aber in keinem Falle nach 70—75 Tagen eine Pflanze infolge der Blattinfektion vollständig abwelkte. Die von Smith (1920) vermutete Infektion durch die Spaltöffnungen konnte demnach nicht bestätigt werden. Das Bact. michiganense ist vielmehr nach den vorliegenden Versuchen als typischer Wundparasit zu betrachten und kann allem Anschein nach unverletztes Gewebe nicht angreifen. Die negativen Ergebnisse zeigen also, daß das Vorhandensein offener Wunden am Sproß die Voraussetzung für die Entstehung der Sekundärinfektionen bildet. Demgemäß bestehen die größten Möglichkeiten der Krankheitsausbreitung zur Zeit des „Ausgeizens", da bei diesen Arbeiten jeder Pflanze mehrere große, wichtige Gefäße freilegende Wunden zugefügt werden und außerdem eine unmittelbare Übertragung von Bakterien auf dieselben durch Messer und Finger wahrscheinlich ist. Somit scheinen die von Coons (1918), Williams (1928) und Kordes (1933) gemachten Beobachtungen, die der Verbreitung der Bakterien durch das „Ausgeizen" eine große Bedeutung beimessen, zu Recht zu bestehen.

Außerdem ist die Infektion „natürlich" entstandener Wunden durch Anflug oder vom Boden her durchaus möglich. Ihre Bedeutung für die Verbreitung der Bakterienwelke ist schon wegen ihrer geringeren Zahl kleiner; dazu kommt, daß bei derartigen Wunden die Infektionsbedingungen schlechter sind, weil durchaus nicht immer dabei große Gefäße freigelegt werden.

Für einen Massenbefall wird daher die Anzahl der zuerst befallenen Pflanzen — im folgenden als Primärbefall bezeichnet — vor dem „Ausgeizen" von ausschlaggebender Bedeutung sein, wie dies oben berichtet wurde. Das Zustandekommen dieser Primärinfektionen kann auf 2 Ursachen zurückgeführt werden, und zwar spielt dabei

1. die Übertragung mit dem Saatgut und
2. die Infektion der Jungpflanzen vom Boden her eine Rolle; beide Fälle wurden in der Praxis beobachtet.

Die Samen konnen äußerlich und innerlich infiziert sein; da erstgenannte Infektionsart leicht durch Beize der Samen mit quecksilberhaltigen Mitteln unschadlich gemacht werden kann, stand die Untersuchung der inneren Sameninfektion und ihre Bekämpfung (siehe später) im Vordergrunde. Bryan (1930) zeigte, daß die Bakterien durch die Gefäße der Placenta bis zum Hilum des Embryos vordringen. Derartig infizierte Samen wurden auch bei uns häufig gefunden.

Das Ausmaß der Krankheitsverbreitung durch krankes Saatgut hängt sehr stark von den jeweiligen Standortsbedingungen, insbesondere Bodenart und Ernahrung ab. Bryan (1930) berichtet, daß Aussaat von krankem Saatgut in Washington nur 1%, in Georgia dagegen 54,4% befallene Pflanzen lieferte, „This indicates that seedbed condition are an important factor in the production of devastating outbreaks of bacterial canker". Neben den Anzuchtbedingungen haben aber auch die Klima- und Bodenverhältnisse des Freilandes große Bedeutung fur die Stärke eines Bakterienwelke-Massenauftretens. Es konnte beobachtet werden, daß aus krankem Saatgut auf einem Boden, auf dem die Krankheit im allgemeinen nicht aufzutreten pflegt, sich gesunde Pflanzen entwickelten. Ferner war auffallend, daß durch Bact. michiganense befallene Pflanzen bei üppigem Wachstum auf guten Boden nur vereinzelt vollständig abstarben, während die Bakterienwelke nach unseren 2jährigen Erfahrungen auf Sandböden verheerend auftritt. Die Ausbreitung der Krankheit durch krankes Saatgut kann auf zweifache Art zustande kommen:

1. unmittelbar durch Entwicklung kranker Pflanzen aus krankem Samen,
2. mittelbar, dadurch, daß die Bakterien durch Zersetzung des kranken Samens in den Boden gelangen, von dem dann eine Infektion der Jungpflanzen erfolgen kann.

Keimversuche mit krankem Saatgut ergaben bisher, daß die Keimlinge sich gesund entwickelten. Fur diese Versuche wurden Samen aus solchen kranken Früchten verwandt, in denen die Gefäße bis zu den Funiculi gelb gefärbt und die Bakterien mikroskopisch nachweisbar waren. Nachfolgende Tabelle gibt die Ergebnisse dieser Versuche wieder:

Tab. 8. Keimfahigkeit[1]) bakterienkranker Samen aus einzelnen Fruchten.

Frucht Nr.	Anzahl der ausgelegten Samen	Gekeimt	% keimfahig	Frucht Nr.	Anzahl der ausgelegten Samen	Gekeimt	% keimfahig
1	45	41	91,1	11	14	14	100
2	32	22	71,9	12	50	41	82,0
3	14	10	71,4	13	50	50	100
4	50	50	100	14	118	108	91,5
5	35	35	100	15	153	136	88,9
6	50	47	94,0	16	29	28	97,0
7	50	50	100	17	123	89	73,0
8	25	13	52,0	18	132	67	51,0
9	30	30	100	19	17	9	53,0
10	50	42	84,0				

[1]) Keimfahigkeit von 90—100% ist normal fur gesundes Saatgut.

Die Keimlinge wurden in Erde bis zur Entwicklung der ersten 4 Blätter weiter gezogen, ohne daß sich Welkesymptome zeigten. Dann mußten die Versuche aus technischen Gründen leider abgebrochen werden. Das negative Ergebnis dieser Versuche konnte seine Ursache darin haben, daß die Krankheitssymptome erst relativ spät auftreten und bei Abbruch des Versuches die anscheinend gesunden Pflanzen bereits befallen waren; mikroskopisch konnten aber keine Bakterien gefunden werden. Daher ist eine Wiederholung, bei der die Pflanzen bis zur Fruchtreife kultiviert werden sollen, vorgesehen.

Diese Keimversuche ließen in manchen Fällen eine herabgesetzte Keimfähigkeit des kranken Saatgutes erkennen (Frucht Nr. 2, 3, 8, 10, 12, 17, 18, 19); vermutlich haben hier die Bakterien den Embryo schon soweit zerstort, daß er nicht mehr entwicklungsfähig ist. Häufiger scheint dagegen die indirekte Art der Krankheitsubertragung zu sein. Durch krankes Saatgut wird die Aussaaterde verseucht und dadurch eine Infektion der Nachbarpflanzen beim Pikieren durch Wunden an den Wurzeln ermöglicht.

Die großte Gefahr für die Entstehung der Primärinfektionen droht nach unseren Beobachtungen vom verseuchten Boden her. Auch aus Amerika finden sich in einem Sammelbericht (Staat Utah 1934) bemerkenswerte Angaben: Aussaat kranken Saatgutes in verseuchtem Gebiet lieferte 40—60% befallene Pflanzen gegenüber 34% bei Verwendung gesunden Saatgutes. Pflanzte man dagegen die Tomaten in gesundem Boden aus, so betrug der Befall nur 1,3%! Die Zahl der primärkranken Pflanzen dürfte im allgemeinen nicht so groß sein, um das manchmal zu beobachtende vollständige Absterben ganzer Bestände zu erklären.

Die Beobachtungen über den Anteil der Primärinfektionen vor dem „Ausgeizen" führten zu folgenden Werten:

In Gerwisch 1935 = 5,1% (von 12 000 Pfl.)
„ „ 1936 = 1,8% („ 6 400 „)
„ „ 1936 = 3,5% („ 5 600 „).

Diese meist geringe Anzahl der Primärinfektionen genügt jedoch, um einen Bestand im Verlaufe des wiederholt (meist 4—5mal) durchgeführten „Geizens" vollständig zu verseuchen. An Gewächshauspflanzen durchgeführte Untersuchungen zeigten, daß der Befall an den Wurzeln von der Bodenart abhängig ist: Versuche, Pflanzen, die in guter, humusreicher Anzuchterde wuchsen, von den Wurzeln aus zu infizieren, blieben erfolglos; dagegen gelang die Infektion an solchen Pflanzen, die nur bis zum Umtopfen in normaler Anzuchterde gezogen und dann in Sand gebracht wurden. Die Infektion der unverletzten Wurzeln erfolgte derart, daß auf die Wurzeln vorsichtig ausgetopfter Pflanzen eine bestimmte Menge einer Bakterienaufschwemmung getropft wurde; bei einer zweiten Pflanzengruppe wurden die Wurzeln mit einer Lanzettnadel angeritzt; die Wunden wurden darauf mit der gleichen Bakterienmenge benetzt. Das in Tab. 9 wiedergegebene Ergebnis zeigt, daß die Bakterien vornehmlich durch die künstlich erzeugten Wunden eindrangen, daß dagegen die unverletzte Wurzelhaut den Bakterien das Eindringen nicht ermöglicht.

Von großer Bedeutung für die Entstehung der Wurzelinfektionen vom Boden her ist die in Amerika [Bryan (1930), Thomas (1930)] und in eigenen Untersuchungen gemachte Feststellung, daß die Bakterien mehrere Jahre im Boden zu überwintern vermögen. Ein von der Bakterienwelke

Tab. 9. Anzahl der kranken Pflanzen bei Infektion der Wurzeln von je 25 Pflanzen.

	Kontrolle	Wurzeln verletzt	Wurzeln nicht verletzt
Nach 28 Tagen	0	9	0
„ 36 „	0	17	5[1])

[1]) Das Umtopfen wurde mit größter Vorsicht ausgeführt; doch ist eine Verletzung der am Topfe haftenden Faserwurzeln kaum vollständig zu vermeiden.

befallenes Tomatenfeld wird durch die absterbenden Pflanzen und die abfallenden kranken Früchte also auf lange Zeit hin verseucht.

V. Bekämpfungsversuche.

Die zur Abwehr der Bakterienwelke zu ergreifenden Maßnahmen richten sich gegen:

1. das Zustandekommen der Primärinfektionen und
2. die Verbreitung auf dem Felde durch das „Ausgeizen" (Sekundärinfektionen).

Rein zahlenmäßig sind nach den bisher gemachten Beobachtungen letztere immer in der Überzahl, doch zeigen die vorher berichteten Untersuchungen, daß der Gesamtbefall abhängig ist von der Anzahl der vor dem „Ausgeizen" im Felde schon vorhandenen Primärinfektionen. Diese können auf verschiedene Weise zustandekommen, nämlich: Saatgutübertragung, Infektion während der Anzucht (z. B. beim Pikieren) und Infektion vom Boden her nach dem Auspflanzen in das Freiland.

In kranken Früchten findet man Bact. michiganense sowohl in der den Samen umgebenden Schleimhülle als auch im Samen selbst. Die äußerlich dem Samen anhaftenden Bakterien wurden durch eine Samenbeize mit quecksilberhaltigen Trockenbeizmitteln abgetötet [Fenner (1931)]; sie versagt dagegen bei innerer Infektion der Samen.

Blood (1933) wies zuerst auf die Abtötung der Bakterien durch den Gärprozeß bei der Samengewinnung hin; er fand, daß das Ausgären der zerschnittenen Früchte ohne Zusatz von Wasser gesundes Saatgut lieferte. Da genauere Angaben fehlen, wurden einige Versuche in dieser Richtung angesetzt:

Je 2 bakterienkranke Früchte (mikroskopisch festgestellt) wurden in einer Reibschale zerkleinert und mit dem Fruchtbrei je 10 Tomatenpflanzen infiziert (5 Wiederholungen). Danach wurde der übrige Fruchtbrei zum Vergären bei Zimmertemperatur aufgestellt. Nach 10 und 28 und in einem weiteren Versuch nach 8 und 18 Tagen wurden die Infektionen genau wie vor der Gärung wiederholt. Es ergaben sich nach 4 Wochen folgende Befallswerte (Versuch 1 und 2 zusammengefaßt):

Befall in % bei Infektion mit unvergorenem und vergorenem Fruchtbrei.

Unvergoren[1])	Dauer der Gärung			
	8 Tage	10 Tage	18 Tage	28 Tage
84	24	0	0	0

[1]) 100 Pflanzen infiziert.

Nach 10tägiger Gärung konnten infektionstüchtige Bakterien in dem Fruchtbrei nicht mehr nachgewiesen werden; die Bakterien wurden also während des Gärvorganges abgetotet. Die von Blood (1933) und Magee (1935) vorgeschriebene Gärungsdauer von 3—6 Tagen scheint etwas kurz bemessen zu sein.

Ob auch die im Inneren des Samens vorhandenen Bakterien abgetötet werden, muß erst in weiteren Untersuchungen geprüft werden.

Die Heißwasserbeize der Tomatensamen wurde in Amerika versucht: Die Bakterien, die ja keine Sporen bilden, starben ab, doch entwickelten sich aus dem behandelten Saatgut schwächliche Pflanzen. Die Schwierigkeit besteht nämlich darin, daß der thermale Tötungspunkt des Bact. michiganense und der für Samen gerade noch ertragbare Hitzegrad dicht nebeneinanderliegen. In eigenen Versuchen wurde der thermale Tötungspunkt des Bact. michiganense bei 51—52° C ermittelt; Bryan (1930) gibt den Bereich von 50—53° C an. Die Samen wurden durch halbstündige Einwirkung der Temperatur von 55° C schon so stark geschädigt, daß nur noch 40% der Samen keimten, sogar 52° C beeinträchtigte das Keimvermögen noch (68% gekeimt). Es erscheint demnach zweifelhaft, ob die Heißwasserbehandlung als Saatgutbeize praktisch anwendbar ist.

Nach der Übertragung mit dem Saatgut besteht weitere Infektionsmöglichkeit während der Anzucht. Durch gründliche Desinfektion der Anzuchterde und darüber hinaus Eintauchen der Wurzeln beim Pikieren in desinfizierende Lösungen bzw. Lehmbrei quecksilberhaltiger Naßbeizen kann einer Infektion vorgebeugt werden. Die eigenen Versuche blieben bisher wegen Ausbleiben des Befalls ohne Ergebnisse; Reusrath (1933) und Koch (1934) führten das Tauchen leider ohne Kontrollen durch.

Die experimentelle Nachprüfung der Wirksamkeit dieser Bekämpfungsart ist darum so schwierig, weil der Primärbefall normalerweise gering (siehe S. 391) ist und daher sichere Zahlenwerte nur an sehr großem Pflanzenmaterial zu erwarten sind. Die bakterizide Wirkung der von Reusrath (1933), Koch (1934) und in eigenen Versuchen angewendeten Mittel konnte bei Agarkulturen in gleichen Konzentrationen nachgewiesen werden.

Das Tauchen der Setzlinge vor dem Auspflanzen in 0,1% Sublimatlösung wurde in den 2 letzten Jahren durchgeführt; der Befall vom Boden her war aber bei diesen Versuchen auch in den Kontrollen gering (3—5%), so daß noch kein klares Bild von dem Erfolg dieser Maßnahmen gewonnen werden konnte. Doch ist das Tauchen der Jungpflanzen, das Kotte (1930) empfiehlt, im Hinblick auf die von verseuchtem Freiland drohende Infektionsgefahr als vorbeugende Maßnahme wichtig. Von einem in Amerika erfolgreichen Tauchversuch berichtet Bryan (1930): Getaucht 20%, unbehandelt 80% Befall. Ob in späteren Versuchen diese Erfolge wieder erzielt wurden, ist bisher nicht berichtet worden.

Die Hauptgefahr bedeuten nach den bisher gemachten Beobachtungen für die Verseuchung eines Feldes die Sekundärinfektionen. Die Vermeidung der durch das „Ausgeizen" möglichen Infektionen scheint daher von besonderer Bedeutung für die Bekämpfung der Bakterienwelke zu sein. In dieser Richtung angelegte Bekämpfungsversuche wurden in einem Felde von $^1/_4$ ha Größe (= 6000 Pflanzen) im Sommer 1936 durchgeführt.

Um möglichst klare Ergebnisse zu erhalten, schien es angebracht, die Infektionsmöglichkeit künstlich stark zu erhöhen; dies wurde dadurch erreicht, daß vor dem „Ausgeizen" jeder gesunden Pflanze Finger und

Messer mit einer der primärkranken Pflanzen in Berührung kamen. Als Desinfektionsmittel wurden angewandt:

1. 0,1% Sublimat-Lösung
2. 0,1% „ -Lehmbrei
3. 0,25% Ceresan (U 564)-Lösung
4. 0,25% „ (U 564)-Lehmbrei.

Außerdem wurden die Schnüre, die zum Anbinden der Pflanzen dienten, jeweils mit einer Lösung desselben Mittels in gleicher Konzentration getränkt.

Außer den reinen Lösungen wurden auch solche mit Zusatz von Lehm deshalb geprüft, weil von dem Brei wegen seiner erhöhten Haftfähigkeit eine bessere Desinfektion der Geizwunden erwartet wurde.

Die Versuchspflanzen, die in einem größeren Tomatenfeld des Besitzers standen, wurden genau gekennzeichnet, um Verseuchung des ganzen Bestandes zu vermeiden.

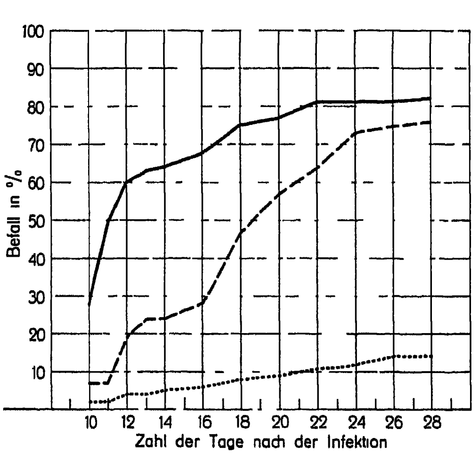


Abb. 9. Wirkung des „sterilen Geizens“ auf den Befall durch Bact. michiganense. ——— unbehandelt; – – – mit Ceresan-Desinfektion; · · · · mit Sublimat-Desinfektion.

Am 10. Tage nach dem „Ausgeizen“ wurden die ersten Welkeerscheinungen festgestellt; diese Inkubationszeit war die gleiche wie in unseren Gewächshausversuchen. Von diesem Tage an wurde der Stand der Versuche in kurzen Zeitabständen zu Protokoll genommen. In Abb. 9 ist der Verlauf der Befallszunahme aufgezeichnet; da sich zwischen Lösungen und Lehmbrei der Desinfektionsmittel keine Unterschiede in der Wirkung ergaben, sind sie bei der Darstellung des Ergebnisses zusammengefaßt. Man kann deutlich die Wirkung der Sublimatdesinfektion beim „Geizen“ erkennen; Ceresan übte dagegen — von einer anfänglichen Hemmung des Befalls abgesehen — keine Wirkung aus, so daß kaum Unterschiede zu den ohne Desinfektion „ausgegeizten“ Pflanzen am Schlusse des Versuchs hervortraten.

Das Versagen dieses Mittels überraschte, da es in Agar-Vorversuchen eine ausgezeichnete bakterizide Wirkung bis zur Konzentration 0,04% herab entfaltet hatte. Diese Agarversuche — das Mittel wurde dem Agar vor dem Erstarren zugegeben —, die außerdem mit Uspulun, Germisan, Formalin, Chinosol und Kupfersulfat ausgeführt wurden, ergaben für die Anwendbarkeit beim „Geizen“ ein falsches Bild von der tatsächlich abtötenden Wirkung, denn alle diese Mittel versagten in Infektionsversuchen. Diese Versuche bestätigen die von Stapp (1930) bei Untersuchung der bakteriziden Wirkung von Alkylresorcinen gemachte Feststellung, daß eine Hemmung der Bakterien auf künstlichen Nährböden keine Schlußfolgerung auf die „im lebenden Pflanzenkörper parasitierenden Bakterien“ erlaubt.

Es konnte festgestellt werden, daß das Ceresan erst nach längerer Zeit (2—3 Min.) in 0,25proz. Lösung die Bakterien schädigt bzw. abtötet, während 0,1% Sublimatlösung sofort wirkt. Die oben erwähnten positiven Ergebnisse

der Agarversuche und die negativen Befunde der Geizversuche sind nun erklärlich, da bei ersterer Versuchsanordnung das Gift dauernd auf die sich entwickelnden Bakterien einzuwirken vermag, während bei den Geizversuchen die Zeit zwischen dem „Ausgeizen" von je 2 Pflanzen zu kurz ist, als daß dadurch die Bakterien vollkommen abgetötet würden.

Um die Auswirkung der „sterilen Geizmethode" auf den Fruchtbehang zu ermitteln, wurden am 27. 7. 36 bei Beginn der Ernte die Fruchtstände und Früchte sämtlicher Versuchspflanzen (in 3 Größenklassen) gezählt (siehe Tab. 10).

Tab. 10. Anzahl der Früchte und Fruchtstände von je 100 Pflanzen bei Erntebeginn.

Art des „Ausgeizens"	3 mm bis 1 cm Durchmesser	1,1—3 cm Durchmesser	über 3 cm Durchmesser	Anzahl der Fruchtstände
Ohne Desinfektion	404	880	268	175
0,25% Ceresan-Desinfekt. .	383	854	257	191
0,1% Sublimat-Desinfekt .	559	1387	584	250

Der zu erwartende Mehrertrag der mit Sublimatdesinfektion „ausgegeizten" Pflanzen ist deutlich ersichtlich; da sich die Tomatenernte bis Anfang Oktober erstreckt und die kranken Pflanzen bis zu diesem Zeitpunkte vollständig abgestorben sind, muß der tatsächlich entstehende Ernteausfall beträchtlich höher, als die Ende Juli ermittelten Unterschiede in der Tabelle erkennen lassen, veranschlagt werden. Leider konnte aus Mangel an Arbeitskräften der Versuch im Sommer 1936 in dieser Richtung nicht bis zum Ernteabschluß ausgewertet werden.

Die „sterilen Geizmethoden" wurden auch schon von einigen Gärtnern praktisch mit Erfolg sowohl im Jahre 1935 wie 1936 durchgeführt.

In Erkenntnis der Tatsache, daß die Verbreitung der Krankheit während des „Ausgeizens" verhindert werden muß, ergeben sich weitere Gesichtspunkte:

V o r dem „Ausgeizen" müssen sorgfältig alle schon kranken Pflanzen vernichtet werden; die Diagnose der Bakterienwelke wird durch die eingangs (S. 377) beschriebene Methode erleichtert.

Das „Ausgeizen" muß so früh als möglich vorgenommen werden, da kleine Wunden eher vernarben als große; die Bildung von Wundkork hemmt das Eindringen der Bakterien, wie folgende Versuche zeigen: Je 8 Pflanzen von 6 verschiedenen Sorten wurden an je 3 Blattstielen verletzt und sofort, bzw. in 24stündigen Abständen durch Auftropfen einer Bakterienaufschwemmung von 48 Std. alten Kulturen infiziert. 29 Tage nach erfolgter Infektion ergaben sich die in Tab. 11 wiedergegebenen Befallswerte.

Die Infektion einer nur 24 Std. alten Wunde erweist sich schon in den meisten Fällen als gehemmt. Ältere Wunden werden noch schwerer infiziert.

Diese Versuche wurden bis zur Reife der Früchte beobachtet. Nach 79 Tagen war der Anteil der kranken Pflanzen innerhalb der Versuchsgruppen wenig unterschiedlich. Doch wurden beträchtliche Unterschiede in der Anzahl der a b g e s t o r b e n e n Pflanzen beobachtet (siehe Tab. 12).

Die verhältnismäßig schwächere Wirkung der nach 1, 2 und 3 Tagen vorgenommenen Infektion ist auch nach langer Zeit noch erkennbar. Die Bedeutung der Wunde als Eingangspforte für die Bakterien sinkt also nach

Tab. 11. 29 Tage nach Infektion der frischen und 1, 2 bzw. 3 Tage alten Wunden.

Sorte	Wunden infiziert nach							
	0		1		2		3 Tagen	
	krank	gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank	gesund
Mikado	1	1	1	1	—	2	—	2
Dreifrucht rot	2	—	1	1	—	2	—	2
Gnom	2	—	—	2	—	2	—	2
Up-to-date	2	—	—	2	1	1	—	2
Westlandia	1	1	1	1	—	2	—	2
Pfitzers Triumpf	2	—	2	—	1	1	—	2
Σ:	10	2	5	7	2	10	0	12

Tab. 12. Anzahl der kranken und abgestorbenen Pflanzen nach 79 Tagen.

Sorte	Wunden infiziert nach							
	0		1		2		3 Tagen	
	krank	abgestorben	krank	abgestorben	krank	abgestorben	krank	abgestorben
Mikado	2	—	2	—	1	—	2	—
Dreifrucht rot	2	1	2	1	1	—	1	—
Gnom	2	2	2	2	2	1	2	—
Up-to-date	2	2	1	—	2	—	2	1
Westlandia	2	1	1	—	2	1	1	1
Pfitzers Triumpf	2	2	2	—	2	—	2	—
Σ:	12	8	10	3	10	2	10	2

kurzer Zeit; auf die Verhältnisse des Freilandes übertragen heißt dies, daß das „Geizen" nur bei trockenem und nicht windigem Wetter vorgenommen werden darf, und solange die auszumerzenden Triebe noch klein sind, da die kleinen Wunden sich schließen, ohne daß eine Infektion durch Anflug der Bakterien (vom Boden her) stattfinden kann. Nach wenigen Tagen besteht diese Infektionsgefahr nur noch in geringem Maße. Vor allem bei dem Ausbrechen ohne Verwendung eines Desinfektionsmittels, das z. B. Kordes (1933) als Bekämpfungsmaßnahme empfiehlt, müssen die obengenannten Gesichtspunkte berücksichtigt werden. Ob das Ausbrechen ohne Messer allein eine Verbreitung zu verhindern vermag, muß noch durch exakte Versuche in Gebieten starken Befalls festgestellt werden. Dem „sterilen Geizen" kommt neben der Desinfektion von Messer und Fingern noch eine weitere Bedeutung zu: Durch das Benetzen der Wunden mit dem Desinfektionsmittel werden diese für die Zeit bis zum Vernarben auch vor „natürlicher" Infektion geschützt.

VI. Anfälligkeit der Sorten.

103 Handelssorten[1]) wurden im Gewächshaus auf ihre Anfälligkeit gegenüber der Bakterienwelke geprüft:

Je 10 etwa 20 cm hohe Pflanzen wurden mit 48 Std. alten Bakterien durch Anritzen mit einer Lanzettnadel am Hauptsproß und den Stielen der

[1]) Den größten Teil des Saatgutes stellte freundlicherweise Herr Dr. N. Nicolaisen von der Landesbauernschaft Sachsen-Anhalt zur Verfügung; für sein Entgegenkommen bin ich ihm zu Dank verpflichtet.

3 untersten Blätter infiziert. Die Temperatur in den Impfkammern betrug mindestens 20° C. Die Versuche wurden nach 12—13 Tagen zum erstenmal, dann bis zur Beendigung (3—4 Wochen) noch dreimal bonitiert. Die Ergebnisse gibt Tab. 13 wieder; in den mit I, II, III und IV bezeichneten Spalten sind die einzelnen Bonitierungen angegeben.

Tab. 13. Resistenzprüfung im Gewächshaus.

Nr.	Bezeichnung der Sorte	Bonitierung			
		I	II	III	IV
1	Abundance	1	2	5	8
2	Ailsa Craig	4	7	8	10
3	Alice Roosevelt	2	5	10	10
4	Augusta 1/35	4	5	6	9
5	Augusta 5/35	3	5	8	8
6	August Haubners Vollendung	—	4	8	8
7	Beste fürs freie Land	4	6	7	9
8	Beste von Allen	3	6	9	9
9	Bitterhoffs Köstliche von Allen	4	6	7	8
10	Bonner Beste	4	8	8	8
11	Bonner-Tuckswood (Kreuzung)	3	6	7	9
12	Bountiful	2	7	10	10
13	Challenger	8	10	10	10
14	Chemin	3	7	7	9
15	Conqueror	8	10	10	10
16	Dänischer Export	6	9	9	9
17	Deutscher Sieg	5	5	5	7[1]
18	Dreifrucht gelb	5	7	9	10
19	Dreifrucht rot	10	10	10	10
20	Dreifrucht weiß	6	9	10	10
21	Early Sunrise	9	9	10	10
22	Eisleber Markt	6	9	10	10
23	Enormous	8	8	8	9
24	Eroberer	6	7	10	10
25	Erste Ernte 43/35	4	9	10	10
26	Erste Ernte 43a/35	9	10	10	10
27	Excelsior	4	7	7	7
28	Expreß	6	10	10	10
29	Favorit	3	6	10	10
30	Ficcarazzi	3	5	9	9
31	Fortschritt	1	5	10	10
32	Fromholds Standard	4	7	6	9
33	Früher roter Zwerg	5	9	9	9
34	Frühwunder	3	5	9	9
35	Geheimrat von Noorden	4	9	10	10
36	Geisenheimer Auslese	8	10	10	10
37	Gnom	9	10	10	10
38	Große rote	6	10	10	10
39	Heinemanns Erfurter Markt	5	7	7	8
40	Heinemanns neue Fruchttomate	1	6	8	8
41	Heinemanns Sieger	7	9	9	9
42	Heterosis	3	7	9	9
43	Horneburger	6	8	8	9
44	Immun	—	4	9	9
45	Johannisfeuer	4	6	8	10
46	Kirschförmige rote	4	7	7	9
47	König der Tomaten	1	7	9	10
48	König Humbert	9	9	9	10
49	Königin der Frühen	6	7	9	9
50	Königin der Königinnen	4	9	9	9

[1]) Nur 9 Pflanzen.

Tab. 13. Resistenzprüfung im Gewächshaus (Fortsetzung).

Nr.	Bezeichnung der Sorte	Bonitierung			
		I	II	III	IV
51	Kondail	4	7	8	8
52	Kondine	3	8	8	8
53	Kondine Red	8	7	9	10
54	Liebys Export	4	6	7	7
55	Lukullus 112/35	2	7	10	10
56	Lukullus 115/35	5	7	10	10
57	Lukullus Treib	4	8	8	8
58	Magnum Bonum	5	6	5	6
59	Marglobe	4	8	9	10
60	Marktkönig	3	5	10	10
61	Marktwunder	3	4	5	8
62	Matador	6	6	8	10
63	Mohrenweisers Schlager	8	9	10	10
64	Neue Bonner Beste	2	6	6	8
65	Non such	4	8	10	10
66	Novato	7	10	10	10
67	Olympia	2	9	10	10
68	Pabsts Allerfrüheste	3	8	9	9
69	Pierette	2	7	8	4[1])
70	Pfitzers Triumpf	7	9	10	10
71	Pfitzers L. Z. 127	2	5	9	10
72	Pilot	3	5	6	7
73	Präsident Garfield	6	8	10	10
74	Protektion	2	4	5	5
75	Purpurkönig	7	8	10	10
76	Radio	5	8	9	9
77	Rekordschlager	2	6	6	9
78	Resista	3	3	6	6
79	Rheinlands Ruhm	3	6	6	9
80	Robusta	4	5	10	10
81	Rotkäppchen	9	8	9	9
82	Royal Scott	3	10	10	10
83	Scharlachkönig	5	8	6	8
84	Schöne von Lothringen 193/35	4	4	5	8
85	Schöne von Lothringen 201/35	1	4	10	10
86	Standard	6	7	9	10
87	Stirling Castle	4	9	10	10
88	Stone	6	6	9	10
89	Sunrise	4	6	7	8
90	Susi Rost	5	6	8	9
91	The Mikado	3	8	8	8
92	The Trophy	4	5	5	8
93	Tuckstir	6	5	7	8
94	Tuckswood	5	6	9	—
95	Überreich	—	3	8	8
96	Up-to-date	7	7	8	8
97	Vesuv	3	6	6	6
98	Weigelts Treibwunder	5	8	6	8
99	Weltbrand	4	8	9	9
100	Westlandia	5	7	9	9
101	Wunder des Marktes (Merveille de Marches)	2	2	3	4[2])
102	Wunder von Italien	4	7	10	10
103	Zeppelin	4	9	10	10

[1]) Nach anfänglichem Welken erholten sich einige Pflanzen. Diese Beobachtung wurde auch vereinzelt bei anderen Sorten gemacht, doch trat sie bei der Sorte Pierette besonders deutlich in Erscheinung.

[2]) Nur 4 Pflanzen.

Neben diesen Handelssorten wurden 4 Wildformen[1]) der Tomate auf ihre Anfälligkeit geprüft: Solanum racemigerum, S. racemiflorum, S. Humboldtii und S. pruniforme. Von diesen Arten war S. racemigerum und S. racemiflorum hochgradig resistent im Gewächshaus gegenüber der Bakterienwelke.

Nach der Resistenzprüfung im Gewächshaus, bei der sich keine der Sorten, wie Tab. 13 zeigt, als immun herausstellte, wurden einige weniger anfällige Sorten (in der Tab. Nr. 54, 58, 69, 74, 78, 97) im verseuchten Gebiet neben anfälligen Sorten angebaut; es wurde keine Pflanze befallen. Da aber im ersten Jahre der Prüfung nur wenige Kontrollpflanzen (10%) erkrankten, muß die Wiederholung des Versuchs abgewartet werden; dasselbe gilt auch für die Wildformen.

Eine sehr wichtige Sorte — Handelsbezeichnungen: Immun, Resista, Fortschritt — ist die Busch- oder Strauchtomate, die dank ihres buschigen, kräftigen Wachstums und der geringen Größe der Achseltriebe nicht „ausgegeizt" zu werden braucht; demzufolge sind Übertragungen durch diese Maßnahme nicht möglich und der Befall beschränkt sich auf die Infektionen der Wurzeln kurz nach dem Auspflanzen der Setzlinge und diejenigen durch „natürlich" entstandene Wunden. Der Anteil dieser Primärinfektionen am Gesamtbefall ist, wie auf S. 391 schon dargestellt wurde, gering. Der Befall der Strauchtomaten betrug nicht einmal 1% bei Auszählung von 11 350 Pflanzen; es kommt hinzu, daß diese Sorte sich für den Anbau auf sandigen Böden ausgezeichnet eignet, wie vergleichende Anbauversuche ergaben. Bezüglich der Wirtschaftlichkeit kommt die Strauchtomate fast den besten Sorten gleich, wie die Untersuchungen von Nicolaisen (1936) ergaben; die ihr noch anhaftenden Mängel könnten durch züchterische Arbeit beseitigt werden.

VII. Zusammenfassung.

1. Die Untersuchung von 14 aus verschiedenen Befallsgebieten innerhalb Deutschlands stammenden Bakterienkulturen ergab keine wesentlichen Unterschiede im Kulturverhalten auf geeigneten Nährböden.

2. Bei einzelnen der Stämme waren abweichende Zellformen festzustellen, die wegen der herabgesetzten Virulenz als Degenerationsformen zu betrachten sind.

3. Die einzelnen Stämme zeigten unter extremen Kulturbedingungen eine verschieden starke Neigung zur Ausbildung teratologischer Formen; einer geringen Veränderlichkeit entsprach eine stärkere Virulenz.

4. Die Empfindlichkeit der Stämme gegenüber Natriumchlorid war deutlich verschieden. Die stärksten Formveränderungen traten bei einem Natriumchloridgehalt des Agars von 3,5 und 7% auf. Bei Zusatz von 10% NaCl trat nur noch schwaches Wachstum ein; die Rückimpfungen von 10% NaCl-Agar auf „normalen" Nährboden gelangen bei 5 Stämmen; jedoch konnte ein hochempfindlicher Stamm, der schon durch Zusatz von 1% NaCl zur Veränderung der Stäbchenform veranlaßt wurde, von der 10% NaCl-Kultur nicht wieder zurückgeimpft werden. In diesem Falle hatte die gegebene Konzentration die Bakterien abgetötet.

5. Bact. michiganense ist ein ausgesprochener Wundparasit.

[1]) Für die Überlassung des Saatgutes bin ich Herrn Prof. Dr. K. O. Müller von der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft zu Dank verpflichtet.

6. Die künstliche Infektion unverletzter Wurzeln, Blätter und Früchte gelang nicht.

7. Die Ansteckungsmöglichkeit durch Wunden wird mit fortschreitender Vernarbung schon nach kurzer Zeit verringert.

8. Verletzte Wurzeln wurden in sandigem Boden leichter infiziert als in humusreicher Anzuchterde.

9. Im Felde tritt die Krankheit hauptsächlich auf leichten Böden auf und kann hier zu vollständiger Vernichtung der Bestände führen.

10. Beim Befall der Tomatenpflanzen ist zu unterscheiden zwischen Primär- und Sekundärinfektion.

11. Die Primärinfektionen erfolgen vom Boden her oder durch krankes Saatgut.

12. Die Übertragung durch krankes Saatgut geschieht meistens mittelbar durch Verseuchung der Anzuchterde.

13. Durch Sekundärinfektionen wird die Ausbreitung der Bakterienwelke im Bestande verursacht; diese erfolgen in hohem Maße durch das „Ausgeizen".

Zur Bekämpfung der Krankheit auf dem Felde ist daher die Verhinderung des sekundären Befalls von hervorragender Bedeutung; dieses Ziel läßt sich durch sterile Ausführung des „Geizens" erreichen.

14. Zur Vermeidung der durch Verseuchung des Bodens entstehenden Primärinfektionen ist Sterilisation der Anzuchterde und Eintauchen der Setzlinge in Lösungen von geeigneten Bekämpfungsmitteln (z. B. 0,1% Sublimat) notwendig.

15. In Früchten befindliche Bakterien werden durch 10tägige Gärung bei der Samenaufbereitung abgetötet.

16. Die Heißwasserbeize scheint wegen der Empfindlichkeit der Samen gegenüber Temperaturen über 50° C praktisch nicht durchführbar zu sein.

17. Die sog. Strauchtomaten, die im allgemeinen nicht ausgegeizt werden, wurden im Felde nur sehr schwach von Bact. michiganense befallen, da die Geizwunden als Eingangspforten für die Bakterien fehlen. An verletzten Pflanzen gelingt die Infektion dagegen ebenso gut wie bei den übrigen Sorten.

18. Von 103 Handelssorten, die im Gewächshaus geprüft wurden, zeigten 6 eine geringere Anfälligkeit.

19. Von den geprüften Wildformen waren S. racemigerum und S. racemiflorum sowohl im Gewächshaus als im Freiland nach 2-jährigen Beobachtungen wenig anfällig gegenüber der Bakterienwelke.

Schriftenverzeichnis.

Appel, O. und Bromer, H., Gemüsekrankheiten. (Pareys Taschenatlanten. Nr. 11. Berlin 1933.) — Berridge, E. M., The influence of hydrogen-ion-concentration on the growth of certain bacterial plant parasites and saprophytes. (Ann. Appl. Biol. Vol. 11. 1924. p. 73.) — Blood, H. L., The control of tomato bacterial canker (Aplanobacter michig. E. F. S.) by fruit-pulp fermentation in the seed-extraction process. (Proc. Utah Acad. Sci. Vol. 10. 1933. p. 19.) — Bryan, M. K., Bacterial canker of tomatoes. (U. S. Dep. of Agric. Circ. Vol. 29. 1928.) — Bryan, M. K., A fruit spot of tomato caused by Aplanobacter michiganense. (Phytop. Vol. 19. 1929. p. 690.) — Bryan, M. K., Bacterial canker of tomatoes-present status of the disease (Aplan. michiganense). (Phytop. Vol. 20. 1930. p. 126.) — Bryan, M. K., Studies on bacterial canker of tomato. (Journ. Agric. Res. Vol. 41. 1930. p. 825.) — Bryan, M. K., Control of bacterial canker of tomatoes. (Phytop. Vol. 20. 1930. p. 127.) — Bryan, M. K., An albino strain of Aplanobacter michiganense. (Phytop. Vol. 20. 1930. p. 141.) —

Bryan, M. K., Color variations in Aplanobacter michiganense. (Phytop. Vol. 21. 1931. p. 559.) — Bucksteeg, W., Über atypische Zellformen bei Bacillus amylobacter. Ein Beitrag zur Frage des Pleomorphismus der Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 91. 1935. S. 321.) — Coons, G. H., Plant diseases survey for 1917. (Michig. Agric. Sci. Vol. 20. 1918. p. 425.) — Fawcett, E. H., and Bryan, M. K., Color in relation to virulence in Aplanobacter michiganense. (Phytop. Vol. 24. 1934. p. 308.) — Fenner, L. M., Bacterial canker of tomato and its distribution with the seed from infected fruit (Aplanobacter michig.). (Journ. Econ. Ent. Vol. 24. 1931. p. 544.) — Fischer, W., Tätigkeitsbericht der Hauptstelle fur Pflanzenschutz der Landwirtschaftskammer für die Provinz Hannover. 1932. — Van Haltern, F., Control of Tomato seedbed diseases of southern plants. (Bull. Ga. Exp. Sta. Vol. 187. 1935.) — Jaenicke, A., Einiges über Tomatenkrankheiten unter Glas im Jahre 1927. (Obst- u. Gemüsebau. Bd. 73. 1927. S. 261.) — Koch, R., Die Behandlung der Tomatenpflanzen mit Uspulun gegen die Tomatenstengelfäule und die bakterielle Tomatenwelke. (Ratschl. f. Haus, Garten, Feld. Bd. 9. 1934. S. 11.) — Kordes, H., Einige Maßnahmen des Pflanzenschutzes im Tomatenbau. (Nachr. über Schädlingsbekämpfung. Nr. 4. 1933. S. 1.) — Kordes, H., Über einige im Tomatengroßanbau zur Gesunderhaltung der Bestände zu ergreifende Maßnahmen. (Obst- u. Gemusebau. Bd. 80. 1934. S. 100.) — Kordes, H., An Tomaten im feldmäßigen Großanbau epidemisch auftretende Krankheiten. (Ratschl. f. Haus, Garten, Feld. Bd. 12. Nr. 2. 1937. S. 25.) — Kotte, W., Der Bakterienkrebs, eine für Deutschland neue Tomatenkrankheit. (Obst- u. Gemüsebau. Bd. 76. 1929. S. 186.) — Kotte, W., Der Bakterienkrebs der Tomate, eine für Deutschland neue Pflanzenkrankheit. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 40. 1930. S. 51.) — Mc. Larty, H. R., A bacterial disease of tomatoes new to British Columbia (Aplan. michig.). (Canada Dep. Agric. Rep. Dom. Br. 1925. p. 75.) — Ludwigs, K. und Schmidt, M., Die Krankheiten und Schädlinge der Gemüsepflanzen. Frankfurt a. O. 1935. — Magee, C. S., Bacterial canker of Tomatoes. (Agric. Gaz. N. S. W. Vol. 46. 1935. p. 192.) — Manns, T. F., and Adams, Ann. Rep. Delaware Agric. Exp. Sta. Vol. 79. 1932. — Milbrath, D. G., and Scott, C. E., Bacterial canker of tomato (Aplan. michig.). (Monthl. Bull. Dep. Agric. Calif. Vol. 18. 1929. p. 477.) — Nicolaisen, N., Studien am deutschen Tomatensortiment. (Kühn-Archiv. Bd. 42. 1936. S. 113.) — Peglion, V., L'avvizzimento bacteriaceo del pomodoro. (Rend. della R. Accad. dei Lincei, Ser. 5. Ann. 24. 1915. p. 157.) — Ramsey, G. B., and Link, G. K. K., Market diseases of fruits and vegetables: Tomatoes, Peppers, Eggplants. (U. S. Dep. Agric. Publ. Vol. 121. 1932 Washington.) — Reusrath, Th., Erfolgreiche Bekämpfung der bakteriellen Tomatenwelke und der Tomatenstengelfäule. (Landw. Ztg. Westf.-Lippe. Bd. 90. 1933. S. 62.) — Smith, E. F., A new tomato disease of economic importance. (Science, N. S. Vol. 31. 1910. p. 794.) — Smith, E. F., The Grand Rapids Tomato Disease. (Carnegie Inst. Wash. Publ. 27. Vol. 3. 1914. p. 161.) — Smith, E. F., in: An Introduction to Bacterial diseases of plants. Bacterial canker of tomato. 1920. p. 202. — Stapp, C., Schizomycetes (Spaltpilze oder Bakterien). 43. Bakteriosen der Solanaceen. (Sorauer, Handb. d. Pflanzenkr. Bd. 2. 1928. S. 222.) — Stapp, C., Die Wirkung von Alkylresorcinen auf pflanzenpathogene Bakterien. (Angew. Botanik. Bd. 12. 1930. S. 275.) — Stapp, C., Beiträge zur Kenntnis des Bacterium sepedonicum Spieckerm. et Kotth., des Erregers der „Bakterienringfäule" der Kartoffel. (Ztschr. f. Parasitenk. Bd. 2. 1930. S. 756.) — Stapp, C., Weitere Untersuchungen über die kartoffelpathogenen Eigenschaften von Bacterium (Aplan.) michig. E. F. Smith. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 399.) — Thomas, R. C., The canker disease of tomato. (Ohio Agric. Exp. Sta. Bull. Vol. 145. 1930. p. 116.) — Williams, C. G., The Grand Rapids disease of tomatoes. (Ohio Agric. Exp. Sta. Bull. Vol. 417. 1928. p. 37.) — Wollenweber, H. W., Tomatenkrankheiten und ihre Abwehr. (Flugbl. d. Biol. Reichsanst. Nr. 118/119. 1932.) — Summary report of progress from July, 1, 1932 to June 30 1934. (Bull. Utah Agric. Exp. Sta. Vol. 250. 1934.)

Nachtrag.

Während der Drucklegung der vorstehenden Arbeit erschien die Veröffentlichung von Kordes: „Die Anfälligkeit der einzelnen Tomatensorten Bacterium michiganense gegenüber und Versuche zur Verhütung der Weiterverbreitung dieses Erregers" in der Gartenbauwissenschaft. Bd. 11.

S. 231—236. Die Beobachtungen von Kordes stimmen im wesentlichen mit den Ergebnissen meiner gleichzeitig und unabhängig durchgeführten Versuche überein. Beim Leser seiner Arbeit muß der Satz (S. 236):

„Die Untersuchungen von Orth[1]) (Aschersleben) zeigten, daß die Primärinfektion durch Befall der Wurzeln vom Boden her erfolgte. Das rasche Umsichgreifen der ‚bakteriellen Welke' jedoch kommt meines Erachtens in erster Linie durch Übertragung des Erregers beim Ausgeizen der Triebe mit dem Messer oder den Fingernägeln zustande."

den von Kordes fraglos nicht beabsichtigten Eindruck erwecken, als ob ich mich in dem von ihm zitierten Vortrage am 4. Febr. 1937 in der Hauptversammlung des deutschen Pflanzenschutzdienstes hinsichtlich des Zustandekommens der Sekundär-Infektion gar nicht oder in einem von seinen Befunden abweichenden Sinne geäußert hätte. Ich habe aber ebenso wie in der vorliegenden Arbeit schon in dem zitierten Vortrage auf Grund umfangreichen Zahlenmaterials nachgewiesen, daß die epidemische Verbreitung der Krankheit durch Übertragung der Bakterien während des Ausgeizens erfolgt, und daher als Ergebnis eingehender Versuche zur Bekämpfung der Krankheit das Ausgeizen unter sterilen Bedingungen empfohlen.

Die Unterschiede zwischen seinen und meinen Ergebnissen bei der Resistenzprüfung durch „künstliche Infektion" sind vielleicht darauf zurückzuführen, daß Kordes nur mit je drei Pflanzen der einzelnen Sorten gearbeitet hat.

Die Versuche mit „spontaner Infektion" können erst nach Abschluß der eigenen Freilandprüfungen zum Vergleich herangezogen werden.

Fixation and Transfer of Nitrogen in the Soybean[2]).

By **P. W. Wilson** and **W. W. Umbreit.**

In 1933 Bond (1) published data which he stated shed light on the mechanism of transfer to the plant of free nitrogen fixed in the nodules of the soybean. Recently he elaborated his views with additional data and discussion (2). The essential data for his conclusions consist of periodical analyses of: (a) total nitrogen in inoculated soybean plants, and (b) total nitrogen in the nodules. From these results the percentage of nitrogen fixed which is transferred to the plant from the nodules can be calculated. The percentages observed are fairly constant throughout the life of the plant and Bond concludes that this finding supports the view that transfer is by "passive excretion of nitrogenous substance by the bacteria, especially if fixation is taken to be a form of bacterial respiration rather than part of the process of bacterial protein synthesis".

It is not clear from this statement whether or not the author proposes the "transfer by passive excretion" mechanism only if it be assumed that nitrogen fixation is a form of "bacterial respiration". If this is the case

[1]) Mitgeteilt anläßlich eines Vortrages der Hauptversammlung des „Dtsch. Pflanzenschutzdienstes" am 4. Febr. 1937 in der Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.

[2]) Frasch, Herman, Foundation in Agricultural Chemistry, Paper No. 136. Contribution from the Departments of Agricultural Bacteriology and Agricultural Chemistry, University of Wisconsin.

then the suggested hypothesis is already contained in the assumption since the other alternatives (4) imply that fixation involves the elaboration of free nitrogen into proteins of the bacterial (or nodular) tissue. However, if it is proposed that the data offer critical evidence which will permit a choice to be made among the several available transfer hypotheses, they represent a much needed contribution to our knowledge in this field since by implication they will likewise allow a choice with respect to the alternative mechanisms of fixation.

With these considerations in mind, examination of the data as well as their interpretation appears desirable. During the past five years experiments concerned with the biochemistry of nitrogen fixation in the soybean have been made at this station, the data from which allow calculations similar to those given by Bond. Since these experiments were carried out under a variety of environmental conditions with resultant variations in the rate and extent of fixation, they afford a particularly suitable source of data for comparison with those of Bond.

Table 1. Transfer of nitrogen fixed in nodules of soybeans to plant (Inoculated Series).

Experiment and Harvest	Plant less Nodules			Nodules			Nodules[2]) / Plant	Nitrogen Transferred
	Dry Wt.	Total N	% N	Dry Wt.	Total N	% N		
days	mgm.	mgm.		mgm.	mgm.		%	%
Experiment I (May 3 to June 20, 1933)								
30	626	11.10	1.77	63	2.84	4.50	10.0	—
34 (0.042)[1])	721	18.80	2.61	82	4.00	4.88	11.4	87
40	1139	30.10	2.64	118	5.30	4.50	10.4	89
48	1400	33.78	2.42	145	6.42	4.44	10.3	77
Experiment II (Aug. 28 to Oct. 27, 1933)								
24	440	11.89	2.70	15	0.66	4.40	3.4	—
28	513	12.65	2.46	33	1.55	4.69	6.4	42
32 (0.0172)[1])	540	13.35	2.47	50	2.31	4.63	9.2	45
42	794	19.04	2.40	76	3.32	4.37	9.5	85
46	907	25.80	2.85	71	3.68	5.18	7.9	95
56	1227	43.30	3.52	87	4.42	5.09	7.1	95
60	1430	44.19	3.09	79	4.35	5.50	5.5	101
Experiment III (Dec. 15, 1933 to Jan. 22, 1934)								
24	142	7.05	4.96	1	0.05	4.86	0.7	—
38 (0.0115)[1])	341	8.84	2.59	10	0.50	4.97	2.9	80
47	547	11.73	2.14	32	1.38	4.28	5.8	77
Experiment IV (May 17 to Sept. 16, 1935)								
47	1120	34.20	3.04	114	7.56	6.64	10.1	—
66	3519	77.83	2.20	211	10.33	4.92	6.0	94
131	14180	272.30	1.92	744	32.70	4.40	5.3	90
Experiment V (Aug. 15 to Oct. 21, 1935)								
15	377	8.76	2.33	2	0.06	3.28	0.5	—
39 (0.0073)[1])	837	16.05	1.92	113	5.50	4.87	13.5	57
53	1000	23.21	2.32	82	4.28	5.21	8.2	122
67	1161	30.01	2.58	91	4.79	5.26	7.9	93

All data on per plant basis.

[1]) Velocity constant of fixation, g = d ln nitrogen content/dt.

[2]) Based on dry weights.

Experimental.

Methods. The experiments were designed specifically to compare the nitrogen metabolism of inoculated soybeans with plants given combined forms of this element. Ten Manchu soybeans were grown in glazed jars containing 11 kilos of nitrogen-free pit sand; Crone's solution (4) was added weekly and tap-water, daily (both nitrogen-free). The summer experiments were conducted outside in a cold-frame covered during rainy weather; the winter experiments were carried out in a heated greenhouse equipped with electric lamps for supplementary illumination. At harvest 50 to 150 plants (depending on the size) were taken and divided into roots, stems, leaves and nodules. Each portion was finely minced with shears, then duplicate samples of 10 or 20 grams taken for dry weight determination-about 20 per cent of the total wet weight of the material was used for this purpose. After attaining constant weight in an electric oven, the dry weight samples were finely ground in an electric mill and duplicate analyses of total nitrogen made by a semi-micro method (7). Details of the methods used for growing, harvesting, and analyzing the plants are given in other publications (5, 6, 8). The methods insure reliable samples of the plants at each harvest, since the large numbers taken overcame to a great extent the variation among the individual plants. Sampling the material for analysis is much less susceptible to error as the finely divided material is uniform.

Table 2. Transfer of combined nitrogen from roots of soybeans to plants (Nitrate Series).

Experiment and Harvest	Leaves and Stems			Roots			Roots	Nitrogen Transferred
	Dry Wt.	Total N	% N	Dry Wt.	Total N	% N	L + S	
days	mgm.	mgm.		mgm.	mgm.		%	%
Experiment I								
30	855	27.29	3.19	490	7.35	1.50	57	—
34	955	30.76	3.22	515	9.27	1.80	54	65
40	1552	42.32	2.72	707	11.68	1.65	45	82
48	2104	57.82	2.74	706	11.80	1.67	33	98
Experiment II								
24	404	20.18	4.98	142	2.72	1.92	35	—
28	509	25.23	4.96	168	4.53	2.70	33	74
32	698	30.95	4.43	173	4.94	2.85	25	93
42	1062	32.41	3.05	253	5.96	2.35	24	61
46	1298	37.55	2.90	328	6.56	2.00	25	88
56	1864	39.87	2.13	451	7.30	1.62	24	76
Experiment III								
24 High Nitrate	129	7.70	5.96	35	0.86	2.49	27	—
38	396	18.46	4.65	71	1.87	2.64	18	91
47	624	25.91	4.14	76	1.81	2.37	12	101
24 Low Nitrate	113	6.54	5.77	38	1.06	2.80	33	—
38	403	14.96	3.71	78	1.46	1.87	19	95
47	657	16.97	2.58	97	1.68	1.73	15	90
Experiment IV								
47 High Nitrate	801	19.16	2.39	337	5.88	1.54	42	—
66	3139	75.93	2.41	717	13.41	1.87	23	88
131	7015	146.40	2.09	1880	22.80	1.21	27	88
47 Low Nitrate	773	11.19	1.45	338	5.19	1.53	43	—
66	1998	38.97	1.95	635	10.73	1.69	32	83
131	3660	70.73	1.93	1140	13.47	1.18	31	92
Experiment V								
15	246	9.41	3.83	95	1.45	1.53	38	—
39	874	11.28	1.29	230	3.31	1.44	26	50
53	950	31.60	3.33	351	8.80	2.53	37	79
67	1205	48.55	4,01	337	8.95	2.65	28	99

The relevant data from these experiments are summarized in Tables 1 and 3. Experiments I to V included uninoculated plants supplied combined nitrogen (usually as NH_4NO_3 but in some cases as $Ca(NO_3)_2$) the data for which are given in Table 2; experiments VI and VII (Table 3) included only inoculated plants. In all of these experiments with the exception of experiment IV, the logarithm of the nitrogen content of the plant in milligrams plotted against time results in a straight line; only at the beginning and end of the growing period is there marked departure from linearity. This simple relationship obtaining throughout most of the growth period enables the calculation of the velocity constant of fixation, $g = d \ln (a + y)/dt$, where a is the initial nitrogen content and y is the increase in t days. The value of g is readily ascertained from the slope of the line plotted as already described. As has been emphasized by Burk (3) in the investigation of any function of an organism (in this case transfer of nitrogen by the soybean) it is advantageous to so alter the conditions of the experiments that different growth rates (or fixation rates) result. By so doing, it can be determined whether the observed effects are independent of the rate of development or are merely associated with some particular rate. Further discussion of the desirability and even necessity of applying this criterion to the interpretation of experimental data as well as the particular advantages possessed by g over other measures of reaction rates is given in Burk's paper.

Table 3. Transfer of nitrogen fixed in nodules of soybeans to plant.

Experiment and Harvest	Plant less Nodules			Nodules			Nodules/Plant	Nitrogen Transferred
	Dry Wt.	Total N	% N	Dry Wt.	Total N	% N		
days	mgm.	mgm.		mgm.	mgm.		%	%
Experiment VI (June 17 to Sept. 16, 1935)								
25	619	13.83	2.24	45	2.18	4.84	7.3	—
31	980	23.93	2.44	78	4.12	5.27	8.0	84
38	1591	35.59	2.24	95	4.87	5.12	6.0	94
48 (0.0236)[1]	2850	59.92	2.10	173	8.09	4.67	6.1	88
60	4170	108.39	2.59	296	13.70	4.63	7.0	90
Experiment VII (July 7 to Aug. 26, 1936)								
25	827	19.34	2.34	66	3.15	4.77	8.0	—
29	856	21.38	2.47	74	4.09	5.53	8.6	69
35	1270	36.25	2.84	99	5.20	5.25	7.8	93
41 (0.028)[1]	1623	44.42	2.73	131	6.86	5.24	8.1	83
44	2297	66.92	2.90	192	9.61	5.00	8.4	89
50	3009	91.11	3.01	265	13.20	4.99	8.8	87

[1]) Velocity constant of fixation, $g = d \ln$ nitrogen content/dt.

The data presented in the tables are from experiments in which large differences in type of growth were observed as has been previously discussed for certain of them (8). These differences are reflected in the range of g values obtained—from 0.0073 to 0.042, a six-fold variation. The g values for Bond's experiments are: Experiment I, 0.015; II, 0.0132; III, 0.0139. In Experiment II there occurs a sharp break in the slope of the line during the latter half of the experiment with a consequent drop in the g value to 0.007. Since the rate of fixation as measured by g is practically constant in the experiments of Bond, the criticism might be made that the relative consistency

of his results arose from lack of variation in the specific growth of the plants. This does not appear to be the case, however, since similar results are observed in our experiments in which a greater range in the velocity constants of fixation was obtained.

Table 4. Transfer of nitrogen fixed in nodules of soybeans and cowpeas (data of Whiting and of Orcutt and Fred).

Experiment	Age at Harvest days	Total Nitrogen per Plant mgm.	Nitrogen in Nodules mgm.	Nitrogen Transferred %	Remarks
			Soybeans:		
Series 100	38	25.70	5.61	—	Whiting (9). Note loss in
Mar. 18 to	53	54.88	9.42	87	total nitrogen in last har-
May 31, 1911	60	82.66	16.59	74	vest (0.0225)[1])
	67	91.41	12.08	151	
	74	66.64	11.91	—	
Series 500	14	11.17	0.07	—	Whiting (0.027)[1])
Aug. 8 to	22	13.89	2.21	21	
Sept. 19, 1911	30	24.91	3.56	88	
	41	50.21	5.40	93	
Series 700	12	9.80	—	—	Whiting (0.019)). Nodules on first harvest too small to remove. Probably < 0.05 mgm. N transfer calculated on basis of 0.05 mgm.
Sept. 13 to	23	12.83	1.44	54	
Oct. 25, 1911	31	17.73	1.80	93	
	42	29.70	3.44	86	
			Cowpeas:		
Series 600	14	8.02	0.39	—	Whiting (0.032)[1])
Aug. 8 to	22	12.98	1.84	71	
Oct. 5, 1911	30	25.36	3.70	85	
	41	52.20	8.46	82	
	58	115.52	12.85	93	
			Soybeans:		
Culture 504	35	15.63	1.71	—	Orcutt and Fred (5)
	39	18.72	2.42	77	Light (0.0216)[1])
July 3 to	42	22.15	3.53	69	
Aug. 14, 1933	39	19.82	2.11	91	Shaded (0.0243)[1])
	42	23.11	2.52	88	
Culture 10	35	21.48	3.10	-	
	39	26.00	4.59	67	Light (0.035)[1])
	42	39.67	7.18	81	
	39	31.83	3.91	92	Shaded (0.043)[1])
	42	42.93	5.90	82	

[1]) Velocity constant of fixation, g = d ln nitrogen content/dt.

In Table 4 are included comparable data calculated from the experiments of Whiting (9) and of Orcutt and Fred (5). These are presented since they represent experiments made under cultural conditions distinct from Bond's and to some extent our own, and hence provide further evidence as to the influence of the general growth of the plant on the results observed. The date of Whiting are of further interest since they provide information on a plant other than the soybean. It is noticed that the velocity constants of fixation in these experiments show only a

two-fold variation in spite of the fact that the experiments were conducted during different seasons and large differences in the total quantity of nitrogen fixed were obtained.

Discussion.

Considering the data of Tables 1, 3, and 4, the transfer of nitrogen from nodule to plant may be summarized as follows:

1. In the early stages of fixation a comparatively large proportion of the nitrogen fixed is retained by the nodule. During this period the nodules are developing much more rapidly than is the remainder of the plant as is indicated by the increase in the figures for dry weight of nodules divided by that of the plant. Although the nodules represent less than 10 per cent of the plant, they may retain as much as 30 to 50 per cent of the total nitrogen fixed. The existence of this period appears to be well established since it was observed in three of our experiments (II, III, and VII) as well as by Whiting (Series 500 and 700) and by Orcutt and Fred (Culture 10, light). This stage appears to last only a short time and may not be observed if the initial harvests are taken after fixation is well under way. Apparently the quantity of nitrogen necessary to allow nodule development to a point where the second stage is encountered is usually quite small.

The objection might be raised that the quantity of nitrogen actually measured during this period, both with respect to that fixed and that transferred is so small that experimental errors may account for the relatively small quantity transferred. Opposed to this interpretation is the fact that in every case there is a deficiency of nitrogen transferred when compared with that observed for the remainder of the growth period. If errors of experiment were the cause of this result, it is most unusual since an equal number of excessive percentages (exceeding 100 per cent if 80 to 90 per cent is taken as the average transfer) would be expected. Also, at least in our own experiments, greater accuracy was obtained in the earlier harvests by increasing the number of plants sampled and using the entire lot of nodules for the dry weight and total nitrogen determinations.

2. The second stage coincides with the period of plant development in which growth and assimilation of free nitrogen is logarithmic. During this period a fairly constant quantity of the nitrogen fixed is transferred from nodule to plant (80 to 90 per cent); likewise it is to be noted that during this period the dry weight of the nodule compared to the remainder of the plant is fairly constant. This is the stage that was emphasized by Bond. By considering the portion of the nitrogen fixed which is transferred to the plant rather than that retained by the nodules, more emphasis may be placed on the constancy of these figures than is justified. The nodules which represent less than 10 per cent of the total plant tissue may receive 10 to 20 per cent of the nitrogen fixed — this means that with a constant percentage of nitrogen in the nodules the development of new tissue could vary 100 per cent during a given period (depending on whether 80 or 90 per cent of the nitrogen fixed is transferred), while under the same conditions the development of new tissue in the remainder of the plant could vary only about 12 per cent.

3. In the final stages of growth nitrogen fixation ceases to be logarithmic and transfer of nitrogen may increase to 90—100 per cent and even higher. During the reproductive phase of the plant's development, flower and fruit draw heavily on the nitrogen stores of other portions of the plant including the nodules. In this period there may occur a decrease in the percentage of the plant represented by the nodules since top-growth, especially with respect to carbohydrate constituents, predominates. Under unfavorable enviroment transfer of nitrogen in excess of that fixed may also occur. For example in Experiment V, carried out in a prolonged cold, rainy season (8) fixation was extremely poor, and between the 38th and 53rd days more nitrogen was transferred than was fixed.

In general, the data in this paper differ from those cited by Bond in two respects: (a) the experiments cover a more extensive region of experimental conditions as evidenced by a greater range in the values of the specific velocity constants of fixation; (b) the rate of transfer is not constant throughout the entire period of fixation. Neither of these differences indicates a real disagreement in the data of the several workers whose experi-

ments have been examined. The fact that our experiments show that the rate of transfer is essentially independent of the g value merely extends and adds desirable supporting evidence to the information upon which the interpretation is to be based. For purpose of discussion the rate of transfer has been described as altering in successive stages of the plant's development, but the differences are probably not discontinuous; in the true process a continuous increase probably occurs in the proportion of nitrogen fixed which is transferred. Bond's experiments, as he notes, likewise give evidences of this although the initial values for transfer are higher than those observed in some of the experiments cited in this paper.

Although reconciliation of the experimental results does not appear to offer difficulties, their interpretation with respect to the problem of mechanism of transfer has yet to be considered. Four general hypotheses have been advanced as possible mechanisms for transfer of nitrogen from nodule to plant, viz.: (a) lysis of bacterial cells by plant enzymes; (b) excretion of soluble compounds formed as first products of fixation by the cells; (c) autolysis of dead cells; (d) lysis of bacteria by bacteriophage. The evidence for each view has been discussed by Fred, Baldwin and McCoy (4). Reflection will show that the type of data presented by Bond and in this paper will not allow a choice to be made from among these for reasons to be discussed.

1. The measurements represent end-states and per se cannot explain a mechanism. Since the data are concerned with conditions after the nitrogen has been transferred, it could not be expected that such results would illuminate the question of how the transfer has been made. The origin of the relative constancy in that percentage of the nitrogen fixed which is passed to the plant is not obscure since nodules represent an integral part of the root system and develop in harmony with the roots and other parts of the plant. The portion of the nitrogen which is retained by the nodule merely expresses the relationship between nitrogen required for nodule development and that for development of the remainder of the plant. Attention is directed toward the figures for percentage nitrogen in the nodules and in the remainder of the plant as indicative of this uniform division of the total nitrogen available into (a) that required for the centers of fixation and (b) that required for the other functional organs. The constancy of these values especially in reference to each other is evidence of the regulatory mechanism of the plant which insures that available nitrogen is so distributed that the several parts of the growing plant develop in conformance with one another.

When the nodules are first formed, a comparatively large share of the nitrogen fixed is retained, and their development is relatively more rapid than that of the remainder of the plant. In a short time an equilibrium value with respect to the remainder of the plant is reached and the nitrogen fixed is distributed between them and the rest of the plant in accordance with the requirements for uniform development. As the nodules represent less than 10 per cent of the plant, their share is small so that most of the nitrogen fixed is transferred. It would not be expected that all of the nitrogen available would be passed to the plant since if the latter is to secure nitrogen to meet its expanding needs, the centers of fixation must develop at the same relative rate as does the remainder of the plant. On the other hand retention of any considerable share of the total nitrogen fixed in structures

which represent less than 10 per cent of the plant is equally contrary to laws of plant economy. If it be kept in mind that although the nodules are specialized structures they are likewise an integral part of the total plant, the quantitative character of the transfer becomes merely a normal aspect of the plant's metabolism.

2. The constancy of the transfer relationship is not unique for plants fixing nitrogen since a similar phenomenon can be observed in uninoculated plants given combined nitrogen, i. e., the proportion of combined nitrogen taken up by the roots and passed to the remainder of the plant is likewise relatively constant. The data in Table 2 illustrate this point. In these experiments the combined nitrogen was added periodically to the substrate, and as a result the development of the plant was less uniform than that of plants fixing nitrogen in which the nitrogen supply is regulated, at least in part, by the general metabolism of the host (10). The more erratic behavior of the plants of the combined nitrogen series is indicated by the greater variability in the percentage nitrogen in the different portions of the plant. However, the variation is uniform in different parts so that the composition relative to each other remains fairly constant. Further evidence of variability is indicated if the logarithms of the nitrogen content of these plants be plotted against time; the points do not fit a straight line as closely as with plants of the inoculated series.

Taking into consideration the greater variation in the plants receiving combined nitrogen, it is apparent that the transfer of nitrogen by the roots of these plants to the tops closely approximates that noted for the nodules of inoculated plants. During the early stages of development the roots grow relatively more rapidly than does the remainder of the plant, and a correspondingly larger share of the nitrogen taken up goes into root tissue. This is succeeded by a period in which the greater share of the nitrogen is used for top growth and the percentage of the plant represented by the roots reaches a rather stable figure. In the reproductive phases of the plant practically all of the nitrogen absorbed is used in the tops. The transfer figures for the plants given combined nitrogen show the same trend noted for those of the inoculated series, viz., an initial low value followed by a period in which the transfer is relatively constant, but with an unmistakable trend toward increasing transfer with age of plant. Once again these quantitative observations appear to be only a reflection of the distribution of available nitrogen to the several portions of the plant in accordance with the requirements for uniform development. It follows that the relative constancy as well as the slow rise observed in the percentage of nitrogen transferred from nodules to the remainder of the plant is a normal process in the plant's metabolism irrespective of the source of nitrogen. How the plant regulates the disposition of nitrogen available to it among its several parts is as yet unanswered, but the exisence of this normal mechanism in nodulated soybeans should occasion no surprise.

3. Since the transfer to the plant of a large and constant portion of the nitrogen fixed in the nodules of the soybean appears to be a normal metabolic process and in no way unique for fixation, it remains to determine whether the time element involved may distinguish among the several postulated transfer methods. Calculations made from the data in the tables indicate that the *daily* transfer of nitrogen to the plant averages 20 to 40 per cent of the total nitrogen in the nodule. Only rarely is the upper limit excee-

ded. Calculation from Bond's data show that 30 to 40 per cent of the nitrogen in the nodules was transferred daily to the plant in the early stages of growth and that the quantity decreased with the age of the plant until at the last harvests only about 10 per cent was involved.

Although at first sight these quantities appear to be quite striking, they are not inconsistent with present knowledge of the properties of all the suggested agents. The rapidity with which plant enzymes are able to mobilize insoluble protein from one part of the plant for transport to another is sufficiently well-established as to occasion no doubt but that it would be possible for proteolytic enzymes to avail the plant of cell protein in a few hours after it was formed. Likewise if a bacteriophage is concerned, the action required for mobilization of insoluble cell nitrogen could take place in an extremely short time. Even though autolysis of dead cells were required the necessary time would not be excessive if the demonstrated rapid rise and fall of bacterial populations are considered.

4. Finally, Bond cites Virtanen's data on excretion of nitrogen compounds from nodules into the substrate on which the plant is growing and the work of Thornton and others on cytology of the nodules as supplementary evidence. Aside from the fact that nitrogen excretion has never been reported for the soybean (all published investigation on excretion with this plant have yielded negative results), it should be noted that two of the hypotheses originate from experiments which deal with cytology of and excretion from nodules. Since the data under consideration are to aid in distinguishing among the hypotheses, use of the original bases as supporting data is little removed from argument in a circle.

Our criticism of the validity of Bond's conclusion does not mean that we reject the hypothesis of transfer through excretion since convincing, though not conclusive, evidences have been adduced in its favor. However we do wish to emphasize that since the data of Bond and our own could have arisen irrespective of the mode of transfer operating they cannot be regarded as crucial to the transfer question. It appears that the sole positive statements that can be made on the basis of such data are: (a) during the period of greatest development in the plant only about 10 to 20 per cent of the total nitrogen fixed is retained the nodules; (b) there is little lag in the utilization by the plant of the nitrogen fixed in the nodules. Use of the data in support of any particular transfer hypothesis appears to be unwarranted.

Summary.

Data from a large number of experiments made under a variety of environmental conditions with consequent variations in the extent and rate of nitrogen fixation by the soybean indicate that during the period of greatest fixation, 80 to 90 per cent of the nitrogen fixed in the nodule is transferred to the remainder of the plant. In the early stages of fixation there is evidence that more of the nitrogen fixed is retained by the nodule. Also the quantity transferred may not be constant at any one time but may increase slowly with development of the plant.

These findings are in essential agreement with those of Bond (2) who claims that they support the hypothesis of transfer by excretion. This conclusion does not appear to be valid for the following reasons discussed in detail in the text: (a) as the data represent observations made after transfer

has occurred, it is impossible to determine what the past history of the nitrogen measured has been; (b) the relative constancy of the quantity transferred is only an expression of a normal regulatory mechanism in plants which determines the comparative development of different organs and is not unique nor significant for the fixation process; (c) the time element involved appears to be sufficient for any one of the agents concerned in the four current hypotheses.

It is concluded that the same type of data could be obtained irrespective of which of the four alternative mechanisms were involved; hence the data cannot be used in support of any particular hypothesis.

Bibliography.

1. Bond, G., Transfer of fixed nitrogen from bacterium to host in soybean. (Nature. Vol. 132. 1933. p. 748.) — 2. Bond, G., Quantitative observations on the fixation and transfer of nitrogen in the soybean, with especial reference to the mechanism of transfer of fixed nitrogen from bacillus to host. (Ann. Bot. Vol. 50. 1936. p. 559—578.) — 3. Burk, D., Azotase and nitrogenase in Azotobacter. (Ergebn. Enzymforsch. Bd. 3. 1934. S. 23—56.) — 4. Fred, E. B., Baldwin, I. L., and McCoy, E., Root nodule bacteria and leguminous plants. (Univ. of Wis. 343 pp. 1932.) — 5. Orcutt, F. S., and Fred, E. B., Light intensity as an inhibiting factor in the fixation of atmospheric nitrogen by Manchu soybeans. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 27. 1935. p. 550—558.) — 6. Orcutt, F. S., and Wilson, P. W., Biochemical methods for the study of nitrogen metabolism in plants. (Plant Physiol. Vol. 11. 1936. p. 713—729.) — 7. Umbreit, W. W., and Bond, V. S., Analysis of plant tissue. (Indus. and Engin. Chem. Vol. 8. 1936. p. 276—278.) — 8. Umbreit, W. W., and Fred, E. B., The comparative efficiency of free and combined nitrogen for the nutrition of the soybean. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 28. 1936. p. 548—555.) — 9. Whiting, A. L., A biochemical study of nitrogen in certain legumes. (U. of Ill. Agr. Expt. Sta. Bul. No. 179. 1915. p. 471—542.) — 10. Wilson, P. W., The carbohydrate-nitrogen relation in symbiotic nitrogen fixation. (Wis. Agr. Expt. Sta., Res. Bul. No. 129. 1935.)

Beschreibung einiger neuer Pilzarten aus dem „Centraalbureau voor Schimmelcultures“ Baarn (Holland).

IV. Mitteilung.

Von **F. H. van Beyma thoe Kingma.**

Mit 13 Abbildungen im Text.

I. Pseudeurotium Zonatum nov. gen. nov. spec.

Dieser Pilz wurde von J. Barthelet gefunden in Erde einer Straße in Versailles und zwar an einer Stelle, wo die Bäume durch ausströmendes Leuchtgas abgestorben waren. Auf allen Nährböden bildet er massenhafte braunschwarze Perithezien, welche in schönen Zonen angeordnet sind, während das Luftmyzel im Verlauf dieser Perithezienbildung immer mehr verschwindet (Abb. 1). Die Konidienform tritt gegen die perfekte Form sehr zurück. Die Konidienträger entstehen anfangs als kleine rundliche Ausstülpungen am Myzel, welche sich bald etwas verlängern und dann aussehen wie Flaschen ohne Hals (Abb. 3). Am Scheitel bildet sich dann eine kleine Spitze, aus der schließlich die Konidie hervorgeht. Die fertilen Hyphen

enden meist mit einer 3—4 μ dicken, kolbenformigen Aufschwellung, welche ebenfalls Konidien erzeugt. Manchmal besitzt der letzte Teil der fertilen Hyphen mehrere Seitenzweige, welche schlangenformig oder bogig gekrummt und miteinander verschlungen sind. Auf Grund der oben beschriebenen Konidientrager waren wir anfangs geneigt, den Pilz in der Gattung Scopulariopsis unterzubringen. Das weitere Studium der Konidienform, besonders in einer feuchten Kammer unter dem Mikroskop, uberzeugte uns jedoch, daß die Art der Konidienbildung eine andere war, als fur diese Gattung typisch ist. Die Konidien entstehen nämlich nicht in Ketten. Nun gibt zwar Zach[1]) bei der Beschreibung der neuen Art Scopulariopsis atra an, daß auch hier die Konidien nicht in Ketten erzeugt, sondern „in der Zahl 2 bis höchstens 5 nebeneinander am Ende des gleichen Sterigmas entstehen. Trotzdem ist nach dem ganzen Habitus des Pilzes und nach seinem physiologischen Verhalten (Entbindung von Diäthylarsin) an seiner Zugehorigkeit zur Gattung Scopulariopsis nicht zu zweifeln". Auch bei unserem Pilze entstehen die Konidien an kleinen Stielchen nebeneinander, meist 2—3 an der Zahl, jedoch außerdem als kleine Rosetten in halber Hohe des Konidientragers oder auf kleinen Hockern oder sitzend am Myzel. Diese Art der Konidienbildung nun kommt vor bei Arten der Gattung Sporotrichum. Eine Bildung von Diäthylarsin auf Rohrchen mit Bierwurze-Agar, welche eine Spur einer Arsenverbindung enthielten, konnte zwar in geringem Maße festgestellt werden, darf aber, unserer Ansicht nach, nicht als diagnostisches Merkmal ausschlaggebend sein.

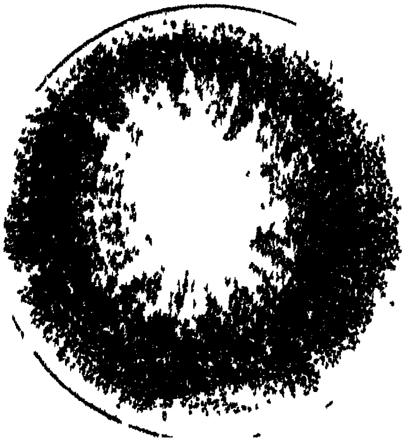


Abb 1. Pseudogiotium zonatum: Reinkultur auf Bierwurze-Agar. ¹/₁ naturl. Große (Aufnahme. van Luyk).

Die Konidien keimen leicht und bilden anfangs einen einzigen Keimschlauch. In flüssiger Bierwurze waren nach 16 Std. die meisten Konidien schon gekeimt, die Keimschläuche erreichten in vielen Fallen eine Länge von 20 μ. Nach 40 Std. hatten sie auch an der entgegengesetzten Seite einen Keimschlauch getrieben und wiesen schon mehrere Verzweigungen auf.

Die Hyphen sind 2—3 μ dick, septiert, hyalin und neigen ein wenig zur Strangbildung. Auf Bierwürze-Agar wächst der Pilz sehr gut. Schon nach einer Woche ist in einer Petrischale mit diesem Nährboden eine weiße, wollige Kolonie von 2 cm im Durchmesser entstanden. Zahlreiche Konidien sind dann schon erzeugt worden, die Perithezien jedoch sind gerade im Entstehen begriffen, wie eine dunkle Zone, an der Unterseite der Schale sichtbar, andeutet. Innerhalb 10 Tage sind sie reif und zu dieser Zeit noch von einem dünnen, weißen, wolligen Myzel überdeckt. Nach 14 Tagen ist der

[1]) Zach, Fr., Untersuchungen uber einige neue Arten der Gattung Scopulariopsis Bainier. (Österr. Bot. Ztschr. Bd. 83. 1934. S. 184.)

Durchmesser der Kolonie 6 cm, der dunkle, perithezienbildende Teil mißt 4 cm und zeigt 8 Zonen, welche je 1 mm breit sind (Abb. 1).

Die Perithezien werden in großen Massen erzeugt. Sie liegen meist frei der Agaroberfläche auf, zum Teil sind sie etwas im Nährboden eingesenkt oder befinden sich in einer Schicht, unmittelbar unter der Oberfläche. Sie sind 100—230 μ groß, kugelig, dunkelbraun, fast schwarz, glänzend, kahl, von außen mit einer derben, getafelten Wand bekleidet (Abb. 2). Ein Ostiolum konnte nicht beobachtet werden. Dagegen sieht man die reifen Perithezien oft an einer Stelle geplatzt und die Sporen in großen Massen herausquellen. Asken sieht man dann nicht mehr, die Wandungen derselben haben sich schon aufgelöst. Diese beobachtet man am besten durch Zerdrückung junger Perithezien mittels eines Deckgläschens. Sie sitzen auf kleinen Stielchen in dichten Knaueln an zarten verzweigten Hyphen: Zufügung von ein wenig Jodjodkali erwies sich bei der Beobachtung als sehr nützlich. Es ergab sich hierbei, daß der Inhalt eines Peritheziums neben Hyphen mit Asci auch noch eckige und längliche, oft beiderseits zugespitzte Zellen enthält. Die Entstehung der Asci aus spiralig sich umwindenden Myzelfäden findet in derselben Weise statt wie bei E u r o t i u m. Paraphysen fehlen gleichfalls. Die Asci sind kugelig oder eiförmig, 7—8,7 × 6—6,3 μ groß und enthalten 8 (mitunter auch 6) Sporen. Diese sind kugelig, glatt, hyalin bis leicht braun gefärbt und fast alle von derselben Größe, nämlich 3,3 μ im Durchmesser.

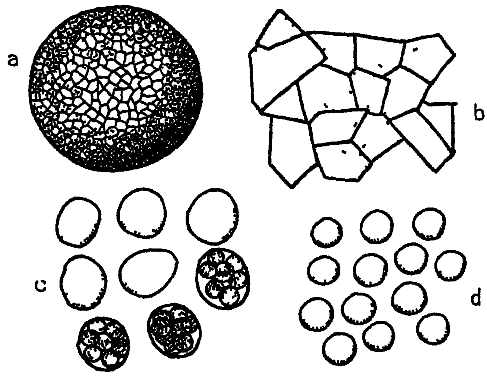


Abb. 2. P s e u d e u r o t i u m z o n a t u m.
a) Perithezium. Vergr. 1 : 107.
b) Peritheziumwand. Vergr. 1 : 1000.
c) Asci. Vergr. 1 : 1000
d) Askosporen. Vergr. 1 : 1440.

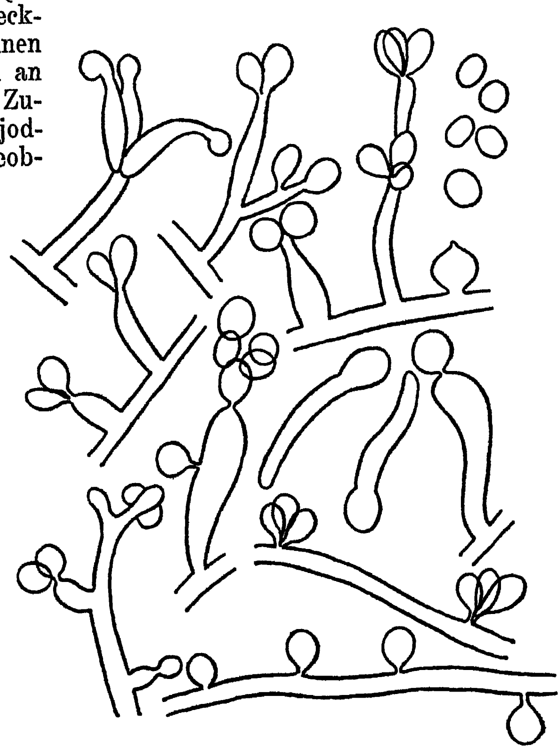


Abb. 3. P s e u d e u r o t i u m z o n a t u m.
Konidienträger, Konidien und keimende Konidien.
Vergr. 1 : 1000.

Die systematische Stellung.

Wie oben schon erwähnt, konnte der Pilz auf Grund seiner Konidienbildung nicht der Gattung Scopulariopsis zugeteilt werden. Die Erzeugung von Konidien nämlich an kleinen Stielchen, nicht nur terminal, sondern auch seitlich an den Trägern oder sitzend am Myzel läßt eine Einreihung in die Gattung Scopulariopsis nicht zu, sondern stellt den Pilz unbedingt in die Gattung Sporotrichum, soweit es die Konidienform anbetrifft. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Askusform zu den Perisporiales gerechnet werden muß und zwar, nach der Einteilung von Clements und Shear, zur Familie der Eurotiaceae[1]). Die Diagnose lautet nämlich u. a.: „Perithezien typisch am Myzel entstehend, Wand gewöhnlich parenchymatisch und häutig, meist bestehend aus polygonalen Platten, bei der Reife an der Spitze aufplatzend, Asci kugelig, Paraphysen fehlend.“ Die weitere Einteilung läßt für unseren Pilz keinen Platz, so daß wir denselben in eine neue Gattung, Pseudeurotium, einreihen, hiermit die Verwandtschaft und zugleich den Unterschied mit Eurotium betonend; für letztgenannte Gattung mit ihren lebhaft gelb gefärbten Perithezien sollen die Aspergillen als Konidienform reserviert bleiben.

Die Einteilung der Hyalosporae würde sich daher, in Anlehnung an die von Clements und Shear, wie folgt gestalten:

Familie Eurotiaceae.

Hyalosporeae.

Sporen einzellig, kugelig bis länglich, hyalin oder subhyalin.

A. Perithezien lebhaft gefärbt, gelb bis rot, selten weiß.
   1. Perithezien mit Setae oder Haaren.
      a) Perithezien mit langen steifen Setae. Sporen linsenförmig . . . . Chaetotheca
      b) Perithezien mit weichen Haaren. Sporen stachelig, kugelig, rötlich . . . . Aphanascus
   2. Perithezien glatt.
      a) Sporen warzig . . . . Anixiopsis
      b) Sporen glatt oder gefurcht, jedoch nicht warzig.
         (1) Perithezien an der Basis ringsum eingeschnürt Dichlaena
         (2) Perithezien bei der Reife ganz aufplatzend . . Eurotium

B. Perithezien braun, tief purpurn oder schließlich schwarz.
   1. Sporen mit unregelmäßigem, flügelartigem Anhängsel Samarospora
   2. Sporen ohne Anhängsel.
      a) Perithezien braun, schließlich schwarz. Paraphysen anwesend, Sporen kugelig . . . . Mycogala
      b) Perithezien braunschwarz, Asci kugelig. Paraphysen fehlend, Sporen kugelig . . . . Pseudeurotium
      c) Perithezien tief purpurn, Platten mit Naht. Paraphysen fehlend, Sporen bohnenförmig . . . . . . Fragosphaeria

Die Beschreibung des Pilzes lautet folgendermaßen:

[1]) Clements, F., and Shear, C., The Genera of Fungi. The H. W. Wilson Company, New York 1931. S. 49 ff.

Pseudeurotium nov. gen.

Perithezien oberflächlich, kugelig, mündungslos, häutig. Asci kugelig oder birnförmig, 8 sporig. Paraphysen fehlen. Sporen kugelig, farblos oder leicht gefärbt. Konidienform kein Aspergillus.

Pseudeurotium zonatum nov. spec.

Myzel derb, wollig, anfangs weiß, später grau mit Neigung zur Strangbildung, in alten Kulturen sehr zurücktretend oder fast verschwindend.

Perithezien kugelig, glänzend, schwarzbraun, kahl oder von einem spärlichen, grauen Myzel überwachsen, 100—230 μ, meist 130—200 μ im Durchmesser, massenhaft auf allen Nährböden, anfangs in denselben mehr oder weniger eingesenkt, später oberflächlich.

Asci kugelig, birnformig oder ellipsoidisch, 7—8,7 × 6—6,3 μ, 6—8-sporig.

Askosporen kugelig, glatt, hyalin oder leicht braun gefärbt, 3—3,3 μ im Durchmesser.

Konidienträger nicht massenhaft, meist einfach, mitunter mit 1—3 konidientragenden Seitenästen. Sterigmen mehr oder weniger flaschenförmig, oft gebogen, 15—40 μ lang, größte Breite bis 5 μ, an der Basis 2—3 μ, hyalin.

Konidien hyalin, eiförmig bis ellipsoidisch, mit körnigem Inhalt, nicht in Ketten, an kurzen Stielchen einzeln oder zwei bis vier nebeneinander am Scheitel, sowie rosettenartig unterhalb desselben am Träger, wie auch auf kleinen Höckern oder sitzend am Myzel, zahlreich aber nicht massenhaft, 4—6 μ lang (Mittel aus 100 Konidien 4,72 μ) und 2,7—4 μ breit (Mittel aus 100 Konidien 3,28 μ), meist 4—5 × 3—3,7 μ.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 12 Tagen:

Langsam wachsend, Kolonie 3½ cm, weiß, krauswollig durch zahlreiche Hyphenbündel. Unterseite gelblich-weiß.

Dasselbe nach 20 Tagen: Schale ganz bewachsen, flach, filzig, grau mit untiefen radiären Furchen. Zonen undeutlich im Zentrum, sehr schön am Rande der Kolonie, bestehend aus zahlreichen Perithezien. Rand faserig, weiß, flach, 3—4 mm. Kein Geruch.

Kultur auf Röhrchen nach 14 Tagen:

Auf Bierwürze-Agar: Oben im Röhrchen zahlreiche braunschwarze Perithezien und spärliches Myzel. Unten im Röhrchen weißes, filzig-wolliges Myzel.

Auf Kirsch-Agar: Flach-wolliges, weißes Myzel, welches die Perithezien überdeckt.

Auf Möhre: Ganz bewachsen mit filzig-wolligem Myzel. Entwicklung der Perithezien besonders am Rande des Stückes.

Auf Kartoffel: Nur spärliches, filziges, weißes Myzel.

Auf Raulin-Agar: Feines, wolliges Myzel, welches die Perithezien in dünner Schicht überdeckt.

Auf Reis: Wenig weißes Myzel, mit einigen Perithezien an der Glaswand. Der Reis 197 oder etwas heller.

Auf Haferflocken-Agar: Zahlreiche braunschwarze Perithezien ohne Luftmyzel.

Hab. Aus Erde einer Straße in Versailles (Barthelet).

Pseudeurotium nov. gen.

Peritheciis superficialibus spheroidibus, sine poro, coreaceis, ascis sphaeroidibus vel piriformibus, 8 sporibus. Paraphysibus nullis, Sporulis sphaeroidibus, non coloratis vel subcoloratis.

Status imperfectus est Sporotrichum.

Pseudeurotium zonatum.

Peritheciis spheroidibus, nitidis, atrobrunneis, calvis vel parco mycelio cano tecto, 100—230 μ, crebris in omnibus substratibus, in quibus primum nascuntur submersa deinde ad superficiem. Ascis spheroidibus vel piriformis vel ellipsoidibus, 7—8,7 × 6—6,3 μ, cum 6—8 sporulis. Ascosporulis spheroidibus, levibus, hyalinis vel subbrunneis, 3—3,3 μ. Conidiophoris parcis, saepissime non ramosis, interdum 1—3 ramos laterales gestantibus. Sterigmatibus pl. m. ampullaceis, saepe curvatis, 15—40 μ longis, maxima crassitudine usque 5 μ, hyalinis. Conidiis hyalinis, ellipsoideis vel ovoideis, granulas continentibus, non catenulatis, brevibus pediculis, simplicibus vel ad 2—4 conjunctis ad apicem, 4—6 × 2,7 μ.

Hab. In terra viae stratae in Versalliis.

II. Penicillium sclerotiorum nov. spec.

Dieses Penicillium wurde von Prof. Boedijn in Buitenzorg (Java) aus der Luft isoliert und zunächst an Dr. Blochwitz-Berlin geschickt, der eine Abimpfung desselben dem Centraalbureau übersandte. Die ersten Kulturen bestanden zunächst nur aus Konidien, bis ein Zufall zeigte, daß im Thermostat bei 25° C fast ausschließlich Sklerotien entstehen. Nach einer kürzlich von Blochwitz veröffentlichten Notiz[1]) soll es dem Citromyces luteus nahestehen und nur durch die Löslichkeit seines gelben Farbstoffes in Benzin von diesem zu unterscheiden sein. Wir betrachten diesen Pilz, den wir kürzlich auch direkt von Prof. Boedijn erhielten, als neu und lassen unten die Beschreibung desselben folgen[2]).

Das Farbenspiel, welches dieses Penicillium zeigt, ist sehr schön. Auffallend sind in erster Linie die massenhaften orangeroten Sklerotien, welche mehr oder weniger deutlich in radiären Linien angeordnet sind, zwischen denen schmale Streifen von leuchtend blaugrünen Konidien sichtbar werden. Um die Kolonien herum wächst ein mehrere Millimeter breiter Rand von blaugrünen Konidien. Die Unterseite der Kolonien ist intensiv rotorange gefärbt. Die Sklerotien stellen rundliche Gebilde dar von 500—700 μ im Durchmesser, welche steinhart sind, so daß sie nur mit Mühe zerdrückt werden können (Abb. 1a). Auf dem Querschnitt bestehen sie aus dickwandigen, eckigen, farblosen Zellen, etwa 11—13 × 8—9 μ groß (Abb. 1b). Der rote Farbstoff löst sich leicht in Alkohol und Äther auf zu einer orangegelben Flüssigkeit; die Sklerotien bleiben

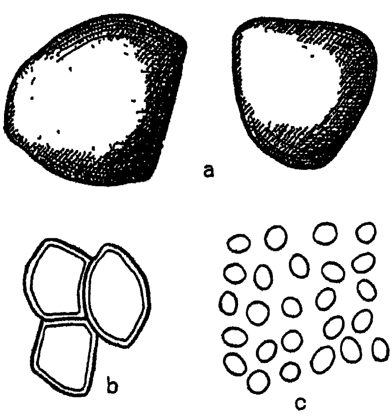


Abb. 1.
Penicillium sclerotiorum.
a) Sklerotien. Vergr. 1 : 40.
b) Zellen aus dem Innern der Sklerotien. Vergr. 1 : 1000.
c) Konidien. Vergr. 1 : 1000.

---

[1]) Ann. Mycol. Vol. 33. Nr. 5/6. 1935. p. 24—25.

[2]) In obengenannter Notiz berichtet Blochwitz, Prof. Biourge werde die Bestimmung dieses Penicilliums übernehmen. Wie mir Prof. Biourge auf meine Anfrage hin mitteilen laßt, habe er nicht die Absicht, dasselbe zu beschreiben, sondern überlasse es mir. Ich mochte Prof. Biourge an dieser Stelle für sein Entgegenkommen meinen Dank aussprechen.

dabei als farblose Körnchen zurück. Es gelang nicht, dieselben zur Bildung von Perithezien zu veranlassen. Auch in den ältesten, etwa 8 Monate alten Kulturen konnte keine Reifung zu Schlauchfrüchten nachgewiesen werden.

Die Sklerotien bilden sich vor allen Dingen bei höherer Temperatur. In einem Thermostat von 26° C entstehen hauptsächlich Sklerotien, und die Konidien treten in den Hintergrund. Bei gewöhnlicher Temperatur entstehen zuerst große Kolonien aus Konidien bestehend; erst nach und nach, meist in etwa 10 Tagen, färbt sich der Rand der Kolonien orange und die Sklerotien werden sichtbar als orangefarbene Körner, welche sich allmählich orangerot färben.

Um den Einfluß der Temperatur zu prüfen, wurden vier Schalen mit Konidien beimpft und bei gewöhnlicher Temperatur stehengelassen, bis in jeder eine grünweiße Kolonie von etwa ½ cm im Durchmesser entstanden war. Darauf wurde eine derselben in einen Thermostaten bei 26° C gestellt, die zweite in einen solchen bei 40° C, die dritte im Kühlschrank bei — 4° C und die vierte bei Zimmertemperatur, etwa 16—18° C gehalten. Schon nach 3 Tagen war die Schale bei 26° C ganz bewachsen mit orangeroten Sklerotien, während die Konidienbildung ganz gering war. Die Schale bei 16—18° C zeigte eine üppige Konidienentwicklung, die Bildung von Sklerotien jedoch hatte noch gar nicht angefangen. Die beiden übrigen Schalen, bei 40° C und bei — 4° C zeigten nur ein gehemmtes Wachstum von weißem Myzel, dem in der erstgenannten Schale ein roter, in der letztgenannten ein grüner Ton beigemischt war. Auch nach längerer Zeit entstanden hier aber keine Sklerotien. Aus diesem Versuch geht hervor, daß das Optimum für die Erzeugung von Sklerotien in der Nähe von 26° C zu finden ist.

Die Sklerotien bilden sich am besten auf Bierwürze-, Kirsch- und Kartoffel-Agar, sowie auf Kartoffelstücken; weniger gut eignen sich auf die Dauer Raulin-Agar, gekochter Reis und Mohre.

Die Konidien werden in großen Massen erzeugt, in den Petrischalen als puderige Zonen die Kolonien umrandend, in Röhrchen mit Möhren- und Kartoffelstücken in dicken Krusten auftretend. Sie sind rundlich oder ellipsoidisch, meist 3,0 × 2,5 μ groß und werden an fast ausschließlich unverzweigten Trägern erzeugt, so daß der Pilz in die Gruppe Monoverticillata stricta nach Thom[1]) einzureihen ist (Abb. 1c und Abb. 2).

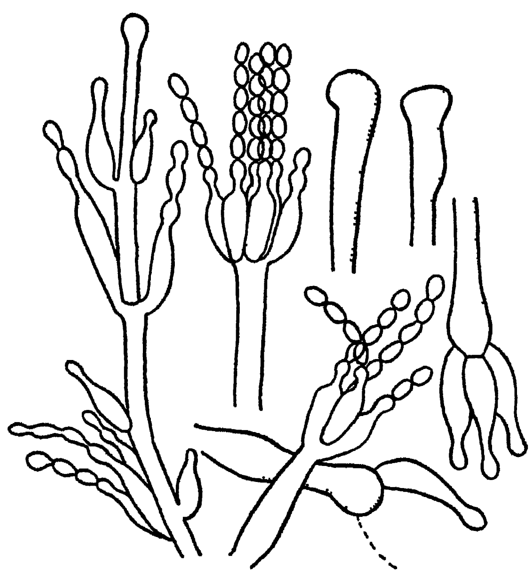


Abb. 2. Penicillium sclerotiorum. Konidienträger, zum Teil mit „Blasen". Vergr. 1 : 1000.

[1]) Thom, Charles, The Penicillia. 1933.

Die Konidienträger sind insofern interessant, als sie nicht nur nach Art der in dieser Gruppe eingeteilten Penicillien, am Scheitel 3—6 Sterigmen aufweisen, welche lange divergierende oder parallele Konidienketten abschnüren, sondern sie zeigen auch mitunter, besonders in älteren Kulturen, am Scheitel eine stockknaufartige Anschwellung, welche 6—7 μ breit sein kann, auf der die Sterigmen in einem Wirtel stehen (Abb. 2). Diese Anschwellung, von Blochwitz „Blase" genannt[1]), kommt regelmäßig bei Aspergillus vor. Demnach würde der Pilz eine Mittelstellung zwischen Aspergillus und Penicillium einnehmen. Wie bei Aspergillus kann man auch hier im Präparat oft die von Sterigmen entblößten Blasen sehen. Zwischen diesen aspergillusartigen und den gewöhnlichen Trägern gibt es alle möglichen Übergänge, in den meisten Fällen ist eine keulige Gestalt derselben jedoch vorherrschend. Eine, wenn auch verhältnismäßig selten vorkommende, etagenweise Verzweigung der Konidienträger schließt unseren Pilz jedoch ohne Zweifel von der Gattung Aspergillus aus.

Um den Beweis für die Zugehörigkeit der Sklerotienform zur Konidienform zu erbringen, wurden Einsporkulturen angelegt. In denselben traten regelmäßig, besonders bei höherer Temperatur, nach kurzer Zeit die orangeroten Sklerotien auf. Auch wurden einzelne Sklerotien mit einer Mischung von Alkohol (96%) und Sublimat (0,1%) im Verhältnis 1 : 1 während 5 Min. behandelt und dann über Petrischalen mit Bierwürze-Agar verteilt. Im Thermostat entstanden bei 22° C schon nach 5 Tagen Kolonien, welche sowohl Sklerotien wie Konidienrasen aufwiesen.

Die Beschreibung eines ähnlichen Pilzes konnte in der betreffenden Literatur nicht aufgefunden werden. Sklerotienbildende Penicillien kommen überdies nur selten vor. Von den als solche bekannten, von Thom erwähnten Arten aus der Gruppe Monoverticillata stricta: Pen. Thomii Maire, Pen. turbatum Westl., Pen. deformans Olsen-Sopp, Citromyces albo-roseum Olsen-Sopp, Citrom. coeruleus Olsen-Sopp und Citrom. griseus Olsen-Sopp, ist unser Pilz den Beschreibungen nach völlig verschieden. Die Beschreibung dieses unbekannten Pilzes lautet folgendermaßen:

Penicillium sclerotiorum nov. spec.

Sklerotien zahlreich auf allen Substraten, vorwiegend bei höherer Temperatur entstehend, 500—700 μ groß, rundlich, steinhart, von intensiv orangeroter Farbe, innen aus farblosen, doppelwandigen, eckigen Zellen bestehend, welche etwa 11—13 × 8—9 μ groß sind.

Konidienträger meist unverzweigt, selten mit einem Seitenzweig, 40—60 μ lang, meist keulig, mitunter in einer rundlichen oder abgeflachten Blase endigend, welche 6—7 μ breit ist.

Konidien rundlich bis ellipsoidisch, hyalin, in langen, parallelen oder divergierenden, in älteren Kolonien zu schlanken Säulen vereinigten Ketten, 2,3—3,3 × 2—2,7 μ, Mittel aus 100 Konidien 3,0 × 2,5 μ.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in Petrischalen nach 10 Tagen bei Zimmertemperatur: Kolonien 3—3½ cm im Durchmesser, bestehend aus orangeroten Sklerotien, mehr oder weniger in radiären Linien angeordnet, Farbe 101—102 (Code des Couleurs),

[1]) Blochwitz, Adalbert, Die Aspergillaceen. (Ann. Mycol. Vol. 27. Nr. 3/4. 1929. p. 185.)

am Rande der Kolonien 151. Rand 1 mm, farblos, aus flach anliegenden, radiär gerichteten Hyphen bestehend. Im Zentrum der Kolonien befindet sich ein 5—7 mm breiter, 1—2 mm hoher Wall aus weißen Hyphen bestehend. Schwacher Geruch. Unterseite etwa 126.

Dasselbe nach 14 Tagen: Kolonie 5 cm im Durchmesser, mit radiaren Streifen von orangeroten Sklerotien, Farbe etwa 81, nach dem Rande hin mehr 131. Zwischen den Sklerotien Streifen von blaugrünen Konidien, 366—361. Im Zentrum ein erhöhter Wall von gelblichem Myzel. Rand der Kolonie 2 mm breit, aus blaugrünen Konidien bestehend, 366—361. Unterseite intensiv orange, etwa 101, nach dem Rande hin 126.

Auf Röhrchen nach 10 Tagen bei Zimmertemperatur:

Auf Bierwürze-Agar flachpuderig, blaugrün, 367—373, ganz unten im Röhrchen 366. Im Zentrum, am Impfstrich entlang entstehen Sklerotien, Farbe 156, ebenso am Rande. Einige kurze Hyphenbündel erheben sich vom Konidienrasen. Unten im Röhrchen ein weißer Rand, ½ mm breit. Rückseite intensiv orange, 153.

Auf Kirsch-Agar: Flach, puderig, 367, im Zentrum am Impfstrich entlang Sklerotien, 156. Ebenso am Rande, 151. Unten im Röhrchen mehrere Zonen von entstehenden Sklerotien, 101, mit goldgelben Wassertropfen.

Auf Möhre: maßiges Wachstum, nur dicke Krusten von Konidien, 373, Übergang nach 342. Keine Sklerotien.

Auf Kartoffelstücken: Üppiges Wachstum, dicke Haut mit Falten, puderig durch Konidienbildung, 367—366—372, mit entstehenden Sklerotien, 151. Rand am Glase 181—102.

Auf Raulin-Agar: Decke mit tiefen Querfalten, z. T. puderig, 372, z. T. wollig-filzig, gelblich-weiß mit großen, goldgelben Wassertropfen. Unten im Röhrchen geringe Entwicklung von Sklerotien, 151. Rückseite mit Querfalten, 166.

Auf Reis: Decke puderig, 372—367, Übergang nach 368. Der Reis am Glase 166—161.

Auf Haferflocken-Agar: Flach, puderig, 366—367, mit zahlreichen Sklerotien und orangeroten Wassertropfen. Der Agar intensiv gefärbt, 156.

Hab. Aus der Luft isoliert (Boedijn, Buitenzorg).

Penicillium sclerotiorum.

Conidiophoris saepissime sine ramis, raro cum ramo laterali, 40—60 μ longis, saepe clavatis, interdum apice inflatis ad 6—7 μ, conidiis rotundis vel ellipsoidibus, hyalinis, longas paralellas vel divergentes catenas formantibus, quae in vetustioribus culturis interdum graciles columnas formant, 2,3—3,3 × 2—2,7 μ, sclerotiis numerosis in omnibus substratis, nascentibus potissimum ad calorem, 500—600 μ, globosis, durissimis, intense rubris.

Hab. In aere ad Buitenzorg (Java).

III. Über ein aus Rotfäule isoliertes Penicillium, Penicillium populi nov. spec.

Dieses Penicillium wurde von Frl. Dr. Koning im hiesigen Laboratorium isoliert aus rotfaulen Pusteln an Stämmen von Populus Eugenii, P. nigra und P. nigra var. fastigiata. Da es nicht mit einem in der Sammlung anwesenden oder sonstwie beschriebenen Penicillium übereinstimmte, wurde es als neue Art betrachtet.

Pen. populi erzeugt in allen Kulturen eine wollige, weiße Decke, welche nur allmählich, infolge der Bildung von Konidien, ergrünt. Anfangs ist die Konidienfarbe schön blaugrün, bekommt aber bald einen grauen Ton, so daß die Decke nunmehr mausgrau aussieht. In älteren Kulturen ist die Konidienfarbe grüngrau mit rötlichem Stiche. Das Penicillium wächst auf allen Nährböden üppig mit dicken, anfangs sterilen Myzelpolstern; später sinkt die wollige Decke etwas in sich zusammen, um in seinem Aussehen und seiner Beschaffenheit weißem Sämischleder zu ähneln.

Auf Grund seiner Eigenschaften ist das Penicillium in die Gruppe Lanata-

Typica nach Thom[1]) einzureihen. Es steht dem Penicillium lanosum Westl. und dem Penicillium lanoso-griseum Thom am nachsten, unterscheidet sich jedoch von ersterem durch die deutlich warzigen Konidienträger, von letzterem durch die globosen und etwas kleineren Konidien sowie durch das Fehlen eines typischen Geruches. Ältere Kulturen weisen eine schwache Zonenbildung auf mit nur untiefen Zonen.

Die Beschreibung lautet folgendermaßen:

Penicillium populi nov. spec.

Konidienträger aufsteigend, bis etwa 1 mm lang und 3,5—4,5 μ breit, feinwarzig, gerade, entweder uber ihre ganze Lange unverzweigt, mit am nicht angeschwollenen Scheitel einem Wirtel von 3—6 oder mehr Sekundärasten, 20—25 μ lang und 3 μ breit, feinwarzig oder glatt, von gleichbleibender Dicke oder keulig, welche je 8—10 dicht zusammenstehende Sterigmen tragen oder verzweigt mit 1—2 Seitenästen, etwas unterhalb des Scheitels.

Sterigmen flaschenförmig, oft mit langem Halse, 13—20 × 3,3—4 μ.

Konidien kugelig bis subglobos, mit Ölimmersion etwas rauh, 2,7—3 μ groß, in langen, divergierenden Ketten.

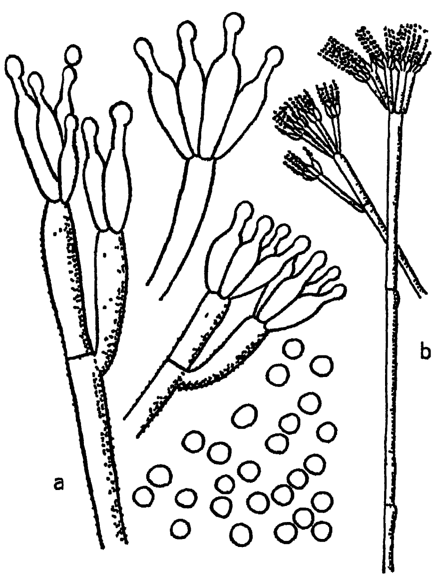


Abb. 1.
Penicillium populi nov. spec.
a) Konidienträger und Konidien. Vergr. 1 : 1000.
b) Konidienträger. Vergr. 1 : 327.

Reinkulturen.

Auf Bierwurze-Agar in einer Petrischale nach 7 Tagen: Kolonien 1 bis 1,5 cm, wollig, hugelig, etwa ½ cm hoch, im Zentrum ergrunt, 396—378 D, am Rande in wolligen Zonen wachsend Rand flach, 1 mm breit, aus radiar ausstrahlenden Hyphen bestehend Kein Geruch. Unterseite der Kultur etwa 296.

Dasselbe nach 15 Tagen: Dicke, rundliche Polster, meist weiß, nur am Rande der Schale ergrunt, 373—368 oder mehr grau-blaugrun. Kein Geruch. Unterseite 253 B—C.

Dasselbe nach 25 Tagen: Stark wollige Kolonien, am Rande mit Konidienbildung, 373—343, mit mausgrauem Stiche.

Auf Rohrchen nach 7 Tagen:

Auf Bierwurze-Agar: Wollig, weiß, stellenweise mit ergrunten Teilen, 396—553 B. Ruckseite 136.

Auf Kirsch-Agar: Wollig, fast das ganze Rohrchen fullend, weiß, am Rande in undeutlichen Zonen.

Auf Mohre: Wollig, weiß bis 553 B.

Auf Kartoffelstucken: Ganz bewachsen mit sparlichem Myzel, weiß.

Auf Raulin-Agar: Wollig, weiß oder 378 D — 553 B, mit tiefen, radiaren Falten und aufstehenden Randern. Rand wollig, weiß. Ruckseite 296.

Auf Reis: Nur oben etwas gewachsen und daselbst ergrunt, 378 D — 553 C. Der Reis ist ungefarbt.

---

[1]) Thom, Charles, The Penicillia. S. 305 ff.

Auf Haferflocken-Agar: Wollig, weiß, nur stellenweise ergrünt, 378 D.
Hab. Aus rotfaulen Stellen von Populus bei Baarn, Holland (H. Koning).

Penicillium populi.

Conidiophoris ad 1 mm longis, 3,5—4,5 μ crassis, verrucis tenuibus obsitis rectis, non ramosis ad basim, 3—6 ramis ad apicem, ramis 20—25×3 μ, eisdem verrucosis, ferentibus 8—10 sterigmata conglobata, vel unum ramum lateralem gestantibus ad aliquem distantiam apicis. Sterigmatibus ampullaceis saepe longo collo, 13—20 × 3,3—4 μ, conidiis plerumque sphaeroidibus, minimis verruculis subverrucosis, longes catenis divergentibus.

Hab. In ligno rubro putri Populi in Baarn.

IV. Penicillium equinum nov. spec.

(Carpenteles equinus).

Dieses Penicillium stammt von Dr. Baudet (Utrecht), der dasselbe aus der von Trichophyton equinum infizierten Haut eines Pferdes isolierte. Das Wachstum auf den verschiedenen Nährboden ist langsam unter Bildung stark gefalteter Häute, worauf sich erst nach und nach Konidienträger entwickeln, so daß die Kulturen lebhaft an Scopulariopsis erinnern. Die mikroskopische Untersuchung zeigt jedoch, daß es ein echtes Penicillium ist, das auf bestimmten Nährboden eine wollige Decke bildet mit langen, verzweigten Konidienträgern, deren schrägwinklig abstehenden Äste, falls Metulae fehlen, direkt die Sterigmen tragen, so daß es in die Gruppe Lanata-Divaricata nach Thom eingereiht werden kann.

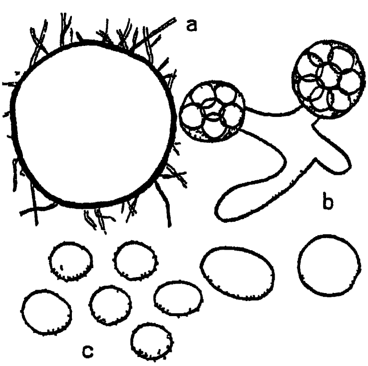


Abb. 1. Penicillium equinum.
a) Perithecium. Vergr. 1 : 327.
b) Asci. Vergr. 1 : 1000.
c) Askosporen. Vergr. 1 : 1440 (Ölimmersion 1/12″).

Eine Eigentümlichkeit dieses Penicillium ist die Bildung kleiner Perithezien, welche sich in etwa 2 Wochen alten Kulturen entwickeln und deren Größe 100 μ meist nicht überschreitet. Diese Perithezien bestehen in ihren äußeren Hüllen aus einem dichten pseudoparenchymatischen Hyphengewebe, welches die an verzweigten Trägern entspringenden Asci umgibt. Letztere sind rundlich und enthalten 6—8 feinstachelige Sporen. Diese Sporen sind kugelig bis ellipsoidisch. Mit Ölimmersion konnte keine Äquatorialfurche festgestellt werden, wohl zeigen sie an mehreren Stellen kleine, farblose Auswuchse, wie das bei Askosporen des öfteren der Fall ist. Die Perithezien entstehen manchmal nur am Rande der Pilzdecken, besonders bei Anwesenheit üppiger Konidienrasen. In solchen Fällen kommen die Perithezien nur spärlich auf. Das ist z. B. der Fall auf Bierwurze-Agar oder Kartoffelstucken. Dagegen entstehen auf Nährböden, welche für die Konidienbildung weniger günstig sind, wie Haferflocken-, Kartoffel- oder Maismehl-Agar, die Perithezien in großen Massen, oft von einem lockeren, weißen Myzel uberdeckt. Anfangs farblos, nehmen sie bald eine gelbbraune Farbe an, welche in alteren

Kulturen allmählich dunkler wird und schließlich in braun übergeht. Durch höhere Temperatur (25—35° C) wird die Entwicklung von Perithezien günstig beeinflußt.

Die Konidienträger sind lang, schlank und weit verzweigt, öfters wellig gebogen, vielfach septiert, an den Septen etwas aufgetrieben und im Innern mit mehreren Vakuolen versehen. Der Scheitel ist mitunter blasig erweitert. Der Pinsel trägt lange, divergierende Konidienketten, deren 4—5 μ große, kugelige Konidien durch kurze, breite Disjunktoren verbunden sind. Im allgemeinen kann man sagen, daß dieses Penicillium spärlicher Konidien erzeugt, wie man das sonst von anderen Vertretern dieser Gattung gewöhnt ist und jedenfalls nur an bestimmten Stellen der Pilzdecken. Da dieses Penicillium sich von anderen ähnlichen, askusbildenden Penicillien entweder durch die Größe und Gestalt der Askosporen oder der Konidien unterscheidet oder durch beide, wurde es als neue Art beschrieben.

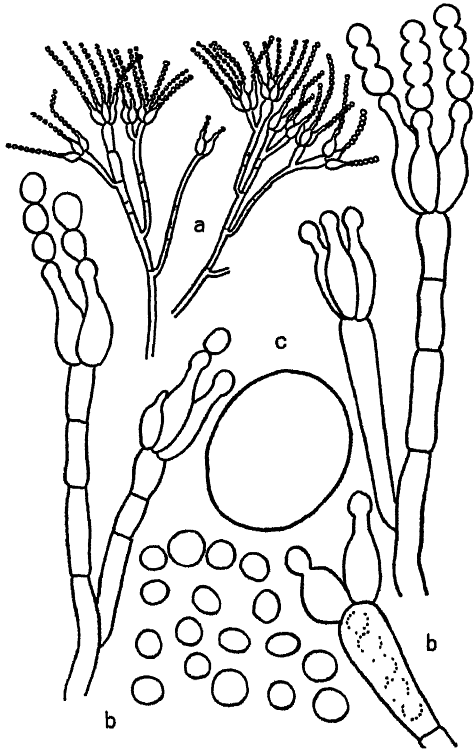


Abb. 2. Penicillium equinum.
a) Konidienträger. Vergr. 1 : 327.
b) Konidienträger und Konidien. Vergr. 1 : 1000.
c) Perithecium. Vergr. 1 : 327.

Die Beschreibung lautet folgendermaßen:

Penicillium equinum nov. spec.

Konidienträger 200—300 μ lang und 3,3—4 μ breit, glatt, vielfach septiert, oft etwas an den Septen aufgetrieben, z. T. mit Vakuolen im Innern, weitläufig verzweigt, am Ende mit mehreren Ästen, welche am Scheitel mehr oder weniger verbreitert sind und daselbst meist drei Sterigmen tragen.

Metulae oft fehlend, wenn vorhanden, keulig, glatt, etwa 10 μ lang und 3—4 μ breit.

Sterigmen flaschenförmig mit langem Halse, 13—19 × 4,3—5 μ.

Konidien in langen, divergierenden Ketten durch kurze, breite Disjunktoren miteinander verbunden, hyalin, glatt, entweder subglobos, 4—5 × 3,3—3,7 μ oder kugelig, 4—5 μ im Durchmesser.

Perithezien rundlich, glatt, 70—120 μ groß, anfangs hyalin, bald gelbbraun, im Alter mehr braun werdend, vorwiegend auf kohlehydrathaltigen Nährböden bei 25—35° C sich entwickelnd.

Asci rundlich bis länglich-rund oder birnförmig, 8—10 × 8—8,7 μ, an verzweigten Trägern entstehend, 6—8 Sporen enthaltend.

Askosporen kugelig bis subglobos oder ellipsoidisch, hyalin, feinstachelig, 3,7—4 × 3,3—3,7 μ.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 14 Tagen bei gewöhnlicher Temperatur (etwa 18° C): Kolonie 2 × 1½ cm, von einem weißen, filzigen Myzel überzogen, etwas in den Agar hineinwachsend, im Zentrum erhaben und von hieraus mehrere radiäre Falten bildend, stellenweise durch Erzeugung von Konidien ergrünt mit einer Farbe zwischen 372 und 341. Keine Perithezien. Schwacher Geruch. Rand scharf. Unterseite rotorange, etwa 82.

Dasselbe nach 14 Tagen bei 24° C: Kolonie 4 × 3½ cm, mit unregelmäßig gewölbter Decke, im Zentrum erhaben mit mehreren radiären Falten, von weißem, filzigem Myzel überwachsen. Einige Segmente sind ergrünt, 372, mit schwacher Perithezienbildung am Rande. Rand scharf, flach. Schwacher, schwer definierbarer Geruch. Unterseite 136—137—132.

Auf Haferflocken-Agar in einer Petrischale nach 25 Tagen bei etwa 18° C: Langsam wachsend, Kolonie 4 cm, wollig-puderig, graugrün durch üppige Konidienbildung, Farbe 342, mit gelblichgrünem Stiche. Rand flachwollig, weiß, 2—3 mm breit. Schwacher Geruch nach Mäusen. Zahlreiche Perithezien, dem unbewaffneten Auge kaum sichtbar.

Auf Röhrchen nach 25 Tagen bei gewöhnlicher Temperatur, etwa 18° C: Auf Bierwürze-Agar mit einem Streifen Filtrierpapier bilden sich filzige Decken mit zahlreichen tiefen Falten, weiß bis graugrün. Am Rande zahlreiche Perithezien.

Auf Kartoffelstücken: ebenfalls eine Decke mit tiefen Falten, die hier aber durch üppige Konidienbildung ergrünt ist, und zwar 337—293. Nur wenige Perithezien.

Auf Kartoffel-Agar wächst der Pilz sehr gut, indem er hier neben grünlich-weißen Decken mit Konidien zahlreiche Perithezien bildet.

Auf Haferflocken-, Maismehl- oder Kartoffel-Agar bei 25—35° C wächst der Pilz bedeutend besser wie bei gewöhnlicher Temperatur unter Bildung zahlreicher Perithezien, wogegen die Erzeugung von Konidien etwas zurücktritt.

Hab. Aus der Haut eines an Trichophyton equinum erkrankten Pferdes (Baudet).

Penicillium equinum (Carpenteles equinus).

Conidiophoris 200—300 μ longis et 3,3—4 μ crassis, levibus, diffuse ramosis, metulae interdum absunt, si adsunt leves, 10 × 3,4 μ, sterigmis ampullaceis longo collo, 13—19 × 4,3—5 μ conidiis dispositis in longis catenis divergentibus, hyalinis, levibus ellipsoideis 4—5 × 3,3—3,7 μ, vel sphaeroidibus 4,5 μ diam., peritheciis rotundis, levibus luteo-brunneis 70—120 μ, ascis rotundis vel piriformibus 8—10 × 8—8,7 μ cum 6—8 sporulis ascophoris ramosis, ascosporulis sphaeroidibus vel subglobosis vel ellipsoidibus, hyalinis, tenuiter spinosis 3,7—4 × 3,3—3,7 μ.

Hab. In cuti equi „Trichophyto equino" affecti.

V. Scopulariopsis lanosa nov. spec.

Diese Scopulariopsis wurde von Frl. Jaarsveld im hiesigen Laboratorium in einer Petrischale entdeckt, worin etwas Seegras (Zostera) mit anhaftendem Meereswasser ausgelegt worden war. Der Pilz zeichnet sich durch seine eigentümlich gebildeten Konidien aus, welche zwar meist spindelförmig oder länglich-zitronenförmig sind, mit einerseits oder beiderseits lang ausgezogener Spitze, mitunter jedoch statt zwei, vier spitze Ecken zeigend, indem auch die Längsseiten im spitzen Winkel ausgezogen sind, so daß sie eine typische, fast viereckige Gestalt aufweisen. Diese letztere Form kann in bestimmten Konidienketten sogar vorherrschen, wobei dann oft die Breite der Konidien die Länge übertrifft.

Auf Bierwürze-Agar bildet der Pilz langsam wachsende Kolonien, welche im Zentrum lockere Büschel von aufrechtstehenden Hyphenbündeln zeigen,

1—2 mm hoch, weiß mit kremfarbenem Stiche. Um das Zentrum herum ist die Decke flachwollig, durch Konidienbildung mehlig bestäubt und unregelmäßig gewölbt, wobei die Falten ziemlich tief in die Agar-Oberfläche einschneiden. Am Rande entstehen bei kräftig wachsenden Kulturen unregelmäßige Ausläufer, welche in ihrer Gestalt an Flammenzungen erinnern. Der Geruch ist nur schwach oder kaum wahrnehmbar.

Auf Nährböden, welche Spuren von Arsen enthalten, erzeugt der Pilz innerhalb 10 Tage einen deutlichen Geruch nach Knoblauch, infolge der Entbindung von Diäthylarsin.

Die Konidienträger sind in den meisten Fällen einfach, seltener mit einem Seitenzweig versehen; sie sitzen in großer Menge den fertilen, 2 μ breiten Hyphen auf. Die Konidien werden in langen Ketten abgeschnürt. Sie sind durch lange Disjunktoren voneinander getrennt, welche bei der Auflösung in einzelne Konidien halbiert werden und so die lang ausgezogenen Spitzen derselben darstellen. Die Keimung der Konidien findet in flüssiger Bierwürze innerhalb 24 Std. statt. Anfangs entsteht ein einziger Keimschlauch, der in den meisten Fällen aus einer Längsseite der Konidie hervorgeht.

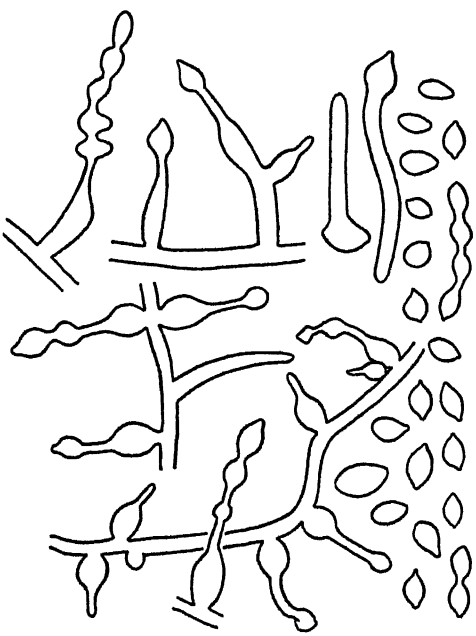


Abb. 1. Scopulariopsis lanosa. Konidienträger u. Konidien (einige keimend). Vergr. 1 : 1000.

Untersucht wurde noch, ob der Pilz eine Vorliebe für Nährböden mit Salzgehalt zeigen würde; dies war aber nicht der Fall, er wuchs ebensogut auf Bierwürze- und Kirsch-Agar mit wie ohne 3% Kochsalz. Sehr gutes Wachstum wurde beobachtet in Röhrchen mit Bierwürze-Agar, worin sich außerdem einige Streifen Filtrierpapier befanden. Das mit Bierwürze durchtränkte Papier erwies sich für das Wachstum des Pilzes als sehr günstig.

Die Beschreibung des Pilzes lautet wie folgt:

Scopulariopsis lanosa nov. spec.

Rasen bestehend aus locker-wolligen, weißen Hyphen, durch Konidienbildung mehlig bestäubt aussehend, mit kremfarbenem Stiche.

Konidienträger meist einfach, selten mit einem Seitenzweig, flaschenförmig, 10—20 μ lang, an der dicksten Stelle 2,7—4 μ breit, mit 4—7 μ langem Halse, in großer Zahl allseitig von den fertilen Hyphen abgehend.

Konidien massenhaft, in langen Ketten, zitronen- oder spindelförmig mit einerseits oder beiderseits lang ausgezogener Spitze, mitunter

typisch fast viereckig, hyalin, in großen Massen kremfarben, 4—5,3 × 2,7 bis 3,3 μ, Mittel aus 100 Konidien 4,6 × 2,8 μ.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 24 Tagen: Kolonie sich nur langsam ausbreitend, 4 cm im Durchmesser, unregelmäßig gewölbt mit tiefen Falten, weiß mit kremfarbenem Stiche, flachwollig, im Zentrum mit lockeren Hyphenbündeln, mehlig bestaubt. Rand mit unregelmäßigen, flammenartigen Ausläufern und farblosem, 1 mm breitem Saum. Schwacher Geruch. Unterseite schmutzig orangegelb, etwa 171 mit unregelmäßigen dunklen Zonen.

Auf Röhrchen nach 20 Tagen:

Auf Bierwürze-Agar: eine flache, leicht gewölbte Decke mit einem zarten, weißen Flaum überwachsen. Rückseite schmutzig gelb.

Auf Kirsch-Agar: lockere Myzelflocken, aus Hyphenbündeln bestehend, mit Konidien mehlig bestaubt, im Zentrum bis 1½ mm hoch, sonst flach, weiß mit kremfarbenem Stiche.

Auf Mohre: schlechtes Wachstum, nur oben ganz kleine Kolonien, bestehend aus einzelnen lockeren, 2—3 mm langen Hyphenbündeln.

Auf Kartoffelstücken: spärliches Wachstum, nur oben eine kleine Kolonie. Das Stück färbt sich rot.

Auf Raulin-Agar: spärliches Wachstum.

Auf Haferflocken-Agar: spärliches Wachstum.

Auf Reis: nur oben etwas lockeres Myzel mit Konidienträgern, wodurch ein gelblicher Ton entsteht. Der Reis bleibt farblos.

Auf Kartoffel-Agar: eine flache, leicht gewölbte Decke mit einem zarten weißen Flaum überwachsen. Rückseite farblos.

Hab. Aus einer Petrischale, worin Seegras ausgelegt wurde (Jaarsveld).

Scopulariopsis lanosa nov. spec.

Tela, constans in hyphis albis lanosisque, formatione conidiorum, sicut farre pulverata. Conidiophoris saepissime simplicibus, interdum uno ramo laterali, ampullaceis, 10—20 μ longis, crassissimo loco 2,7—4 μ crassis, collo 4—7 μ longo, numerosis. Conidiis densis, longe catenulatis, citriformibus vel fusiformibus, altero latere longiore acumine, interdum paene quadriformibus, hyalinis, si densis, floris lactis colore, 4—5,3 × 2,7—3,3 μ.

Hab. In pyxide vitrea „Petri", continente Zosteram.

VI. Torula cephalosporioides nov. spec.

Dieser Pilz wurde von Frl. Bouwens in Nymwegen von den Wurzeln einer Johannisbeere isoliert. In den Kulturen zeigt derselbe eine besondere Neigung zur Strangbildung, wobei die anfangs weißen Hyphenbündel bald eine braunschwarze bis schwarze Farbe annehmen. Mikroskopisch sieht man zu Strängen vereinigte Hyphen, welche zahlreiche, meist unverzweigte Konidienträger aufweisen. Die systematische Stellung des Pilzes erforderte die Wahl zwischen Torula und Scopulariopsis. Eine scharfe Trennung dieser beiden Gattungen ist auf Grund der Diagnosen nicht wohl möglich, so daß es in der Literatur viele Beispiele gibt, woraus diese Unsicherheit bei der Bestimmung hervorgeht[1]). Wenn man typische Repräsentanten der beiden Gattungen Torula und Scopulariopsis betrachtet, findet man große morphologische Unterschiede, so z. B. zwischen Torula convoluta und Scopulariopsis brevicaulis. Die Scopulariopsis-Arten der brevicaulis-Gruppe besitzen alle kurze, verzweigte Konidienträger, welche große, zitronenförmige, meist stachelige, doppelwandige Konidien abschnüren. Je mehr die Arten dieser Gattung sich jedoch von diesen

[1]) Thom, Charles, The Penicillia. p. 512.

Typen entfernen, sei es, daß die Konidienträger sich immer weniger verzweigen, sei es, daß die Konidien eine andere Gestalt aufweisen und statt gelbbraun, eine dunklere Farbe haben, um so mehr verschwinden damit die Merkmale, welche Scopulariopsis von Torula trennen, so daß es immer schwieriger wird, solchen Pilzen ihren richtigen Platz zu geben. Dies ist nun bei dem uns hier beschäftigenden Pilze auch der Fall. Einzelne Konidienträger zeigen eine Verzweigung, welche an Scopulariopsis erinnert, die meisten derselben jedoch sind einfach und vom Myzel nicht differenziert. Die Konidien sind dunkelbraun, und zwar gestachelt, aber nicht zitronen-, sondern eiförmig, mit einfacher Wand. Dieser Organismus könnte also sehr wohl ein wenig differenzierter Vertreter der Gattung Scopulariopsis darstellen.

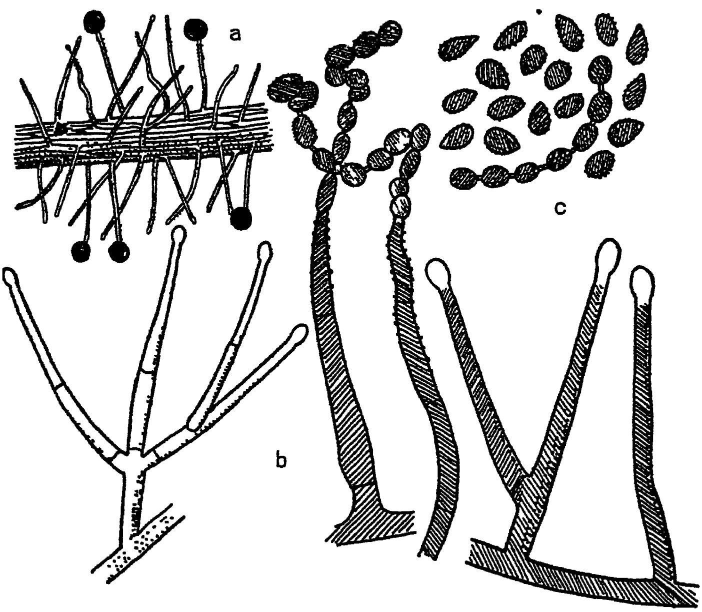


Abb. 1. Torula cephalosporioides. a) Habitusbild. Vergr. 1 : 327. b) Konidienträger. Vergr. 1 : 1000. c) Konidien. Vergr. 1 : 1000.

Ich halte es jedoch für angebracht, ihn bei Torula unterzubringen, da der Pilz die Merkmale dieser Gattung zur Genüge zeigt. Die stacheligen Konidien stellen ihn in die Untergattung Trachytora. Sonst hat er Ähnlichkeit mit Torula convoluta Harz, indem hier wie dort die Konidienketten, besonders in älteren Kulturen, sich zu Sporenköpfchen zusammenrollen, so daß, um mit Lindau zu sprechen, „das Bild eines dunkelsporigen Cephalosporium entsteht"[1]).

Die Konidien keimen an der zugespitzten Seite mit einem geraden Keimschlauch. Die Konidienträger weisen nach dem Scheitel hin mehrere kleine Wärzchen auf. Eine Bildung von Konidien an denselben konnte jedoch nicht beobachtet werden. Schließlich wurde festgestellt, daß der Pilz auf arsenhaltigen Nährböden keine Spur von Diäthylarsin erzeugt.

Die Beschreibung dieser als neu betrachteten Art lautet:

[1]) Rabenhorst, Kryptogamenflora. Abt. VIII. S. 576.

Torula cephalosporioides nov. spec.

Hyphen meist zu Strängen vereint, anfangs farblos, später grau bis dunkelgrau, schließlich braun, septiert, 2—2,3 μ breit, mit zahlreichen, dichtgestellten Konidienträgern besetzt.

Konidienträger anfangs hyalin, später leicht braun bis braun gefärbt, meist unverzweigt, gerade oder wellig gebogen, 40—50 μ lang, an der Basis 2,5—3 μ breit, nicht aufgetrieben, nach der Spitze hin sich allmählich verjüngend und daselbst kleine Wärzchen tragend, mit 1 oder 2 Septen, seltener verzweigt mit einem oder zwei von einer Stelle ausgehenden Seitenzweigen, welche mitunter auch wieder einen Seitenast aufweisen können, an der Spitze Konidienketten oder Köpfchen tragend.

Konidien eiförmig oder verlängert eiförmig, einerseits zugespitzt, stachelig, in reifem Zustande gelbbraun bis braun, in großen Massen fast schwarz, in langen, stark geschlungenen, schließlich zu 10—25 μ großen Köpfchen aufgerollten, mit kurzen Disjunktoren versehenen Ketten, 4 bis 5,3 × 2,7—3,3 μ, meist 4 × 2,7 μ groß.

Reinkulturen.

Kultur auf Bierwürze-Agar in Petrischalen nach 6 Tagen: Kolonie 2 cm im Durchmesser, krauswollig mit fast 1 cm langen schwarzgrauen, nach dem Scheitel hin weißen Hyphenbündeln. Kein Geruch. Unterseite gelbgrün, 271—253 B.

Kultur auf Röhrchen nach 7 Tagen:

Auf Bierwürze-Agar: Decke wollig-strähnig, an der Basis schwarz durch Konidienbildung, nach der Oberfläche und dem Rande hin grau bis weißlich. Rückseite im Zentrum schwarz.

Auf Kirsch-Agar: fast wie vorige.

Auf Möhre: Flacher, sammetartiger Überzug, fast schwarz. Kein Luftmyzel.

Auf Kartoffel: Nur oben eine große wollige Kolonie, im Zentrum schwarz, nach dem Rande hin mit farblosen, parallel verlaufenden Hyphen.

Auf Raulin-Agar: Eine wollige Myzeldecke, weiß bis etwas gelblich, an der Basis schwarz.

Auf Reis: 1 cm tief gewachsen, grau. Oben im Röhrchen wolliges, weißes Myzel.

Auf Haferflocken-Agar: Eine flache schwarze Decke mit spärlichem, weißem Myzel am Rande, unten im Röhrchen fast submers.

Hab. An den Wurzeln einer Johannesbeere in Nymwegen (Bouwens).

Torula cephalosporioides nov. spec.

Hyphis fasces efformans, primum sine colore, deinde cineraceis opacis, denique brunneis, septatis, 2—2,3 μ crassis conidiophoras densas gerentibus. Conidiophoris subcoloratis, rectis vel undulatis, 40—50 μ longis, ad basim 2,5—3 μ crassis in tenuitatem desinentibus, ubi consitae sunt verriculis. Conidiis ovatis vel oblonge ovatis, altero latere apicatis, spinosis, flavobrunneis vel brunneis, si accumulatis subnigris, in longis catenis, quae interdum convolutae sunt in caespitem amplitudine 10—25 μ, 4—5,3 × 2,7—3,3 μ.

Hab. in radicibus Ribis rubri ad Noviomagum.

VII. Über die Gattung Cadophora und eine neue Art, Cadophora heteroderae (Jacz.) nov. comb.

Aus Rotterdam erhielt das Centraalbureau einen Pilz zugeschickt, der wiederholt aus dem Wasser einer dortigen Badeanstalt isoliert worden war. Es stellte sich bald heraus, daß hier eine Species der Gattung Cadophora vorlag und im Verlauf der weiteren Untersuchung wurden nicht nur die im Centraalbureau vorhandenen Cadophora-Arten vergleichend geprüft, sondern

auch einige Pilze mit herangezogen, welche unter dem Mikroskop dem zu untersuchenden Organismus gegenüber große Ähnlichkeit zeigten.

Man geht wohl kaum fehl, wenn man annimmt, daß die meisten Arten der vor einigen Jahren von Lagerberg und Melin gegründeten Gattung Cadophora[1]), sofern sie früher aufgefunden worden sind, als Trichosporium aufgefaßt wurden, da die eigentümliche Bildung der Konidien längere Zeit der Aufmerksamkeit der Forscher entgangen zu sein schien. So war auch ein im Jahre 1927 von uns an Dahlia-Wurzeln beobachteter Pilz als Trichosporium populneum L. et F. bestimmt worden. Als nun 1932 Dr. J. Rozsypal aus Brno uns einen aus Zysten von Heterodera Schachtii Schm. isolierten Pilz unter dem Namen Torula heteroderae Jaczewski zuschickte[2]), erkannten wir sofort die Ähnlichkeit mit dem Dahlia-Pilz und bestimmten denselben, trotz einiger Abweichungen im Wachstum, als Trichosporium populneum L. et F. Die neuerliche Untersuchung der beiden letztgenannten Arten ergab jedoch die Zugehörigkeit zur Gattung Cadophora, und zwar als 2 verschiedene Arten. Der von Dahlia-Wurzeln isolierte Pilz wurde als Cadophora fastigiata Lag. et Melin erkannt, der Pilz aus Rotterdam wurde mit dem von Rozsypal isolierten Pilz identifiziert und wird im folgenden als Cadophora heteroderae (Jacz.) nov. comb. beschrieben.

Was die Bildung der Konidien bei Cadophora anbetrifft, stellen Lagerberg, Lundberg und Melin sich auf den Standpunkt, daß die Konidien als Endosporen betrachtet werden müssen, d. h. daß dieselben innerhalb der Phialiden entstehen und durch den Mechanismus des Wachstums und der Reife nach außen befördert werden, während von innen aus eine fortwährende Nachbildung stattfindet. Die Zellteilungen, welche diese Konidienbildungen einleiten, wollen sie in der Tat innerhalb des Phialiden wahrgenommen haben[3]). Melin und Nannfeldt nehmen an, daß bei der Bildung der Konidien die äußere Schicht der Zellmembran aufplatzt, um die innerhalb der Phialiden gebildeten Konidien durchlassen zu können[4]). Nach unseren Beobachtungen findet man in dem aufgetriebenen Teil der Phialiden nur große Vakuolen von unregelmäßiger Gestalt, welche keinesfalls im Entstehen begriffene Konidien vortäuschen können. Wir müssen uns den Vorgang der Konidienbildung ungefähr wie folgt denken:

Die Phialiden stellen flaschenförmige Behälter dar, deren Inhalt von einer gelatinösen Membran umhüllt ist. Diese Membran liegt der äußeren Wand dicht an. Schicken die Phialiden sich an, eine Konidie zu erzeugen, so platzt die Wand auf und die Membran, ernährt von dem Inhalt des Phialiden, wächst mehr oder weniger kugelig aus demselben heraus, dabei auf dem zurückgebliebenen, schüsselförmigen Teil des Scheitels ruhend. In diesem Stadium kann man einen Pilz der Gattung Cadophora unter dem Mikroskop daran erkennen, daß der halbkugelige Teil an der Basis durch eine gerade Querwand, eben den Rand der „Schüssel", abgeschlossen ist (Abb. 1 a). Bei der Reife der Konidien weichen die aufstehenden Ränder der „Schüssel" immer mehr auseinander und beharren in diesem Stande auch nach Ab-

[1]) Lagerberg, T., Lundberg, G., and Melin, E., Blueing in Pine and Spruce. Stockholm 1927. S. 263.

[2]) Bull. Czecho-Slowak. Acad. of Agric. Vol. 10, 6/7, 1934. p. 413—422.

[3]) Vgl. S. 260.

[4]) Melin, E., and Nannfeldt, J. A., The Blueing of ground Woodpulp. Uppsala 1934. S. 416.

stoßung derselben. Indem jetzt bei mikroskopischer Betrachtung die dem Auge querverlaufenden Teile der „Schüssel“ mehr Licht durchlassen wie die übrigen Teile, kommt das Projektionsbild desselben in der Gestalt eines typischen „Schnabels“ zum Vorschein, woran diese Gattung zu erkennen ist (Abb. 1 b). Diese Auffassung wird gestützt durch die gelegentliche Beobachtung, daß eine schon abgestoßene Konidie, in einiger Entfernung der Schüssel gelegen, trotzdem mit der inneren Membran durch eine hyaline, eben sichtbare gelatinöse Hülle verbunden blieb. Man kann hieraus schließen, daß die Konidien zwar ihren Ursprung einer inneren Membran entnehmen und nicht wie bei Penicillium z. B. durch anfängliche Knospenbildung und nachherige Abschnürung mittels einer Querwand der äußeren Membran, daß sie aber einzeln entstehen und die nächstfolgende Konidie erst nach Abstoßung der vorhergehenden erzeugt wird.

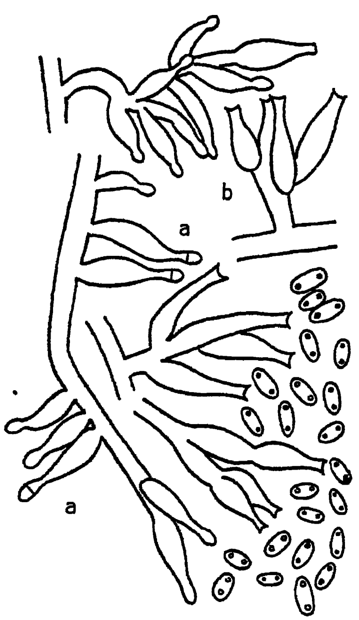


Abb. 1.
C a d o p h o r a h e t e r o d e r a e (Jacz.) v. Beyma nov. comb.
Vergr. 1 : 1000.

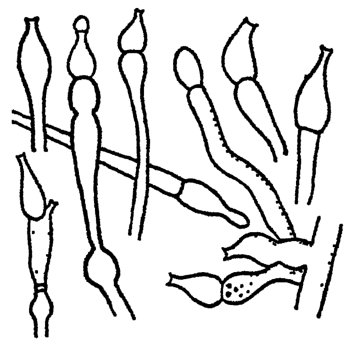


Abb. 2.
C a d o p h o r a l i g n i c o l a (Nannf.) v. Beyma nov. comb.
Vergr. 1 : 1000.

Indessen erfordert die Auffindung des „Schnabels“ bei der einen Art größere Genauigkeit bei der Betrachtung wie bei der anderen. So haben M e l i n und N a n n f e l d t für einen in Schweden allgemein auf Holzschliff vorkommenden Pilz eine neue Gattung aufgestellt, nämlich L e c y - t h o p h o r a l i g n i c o l a , wobei die Konidien auf eigentümlichen, ampullenartigen Trägern erzeugt werden sollen[1]). Inzwischen gelang es uns, auch hier die typischen, von den beiden Forschern wohl übersehenen Cadophora-Phialiden nachzuweisen (Abb. 2), so daß der Anspruch auf eine eigene Gattung für diesen Pilz damit hinfällig wird. Die ampullenartigen Träger bekommen nämlich eine kleine Ausstülpung, woran die Konidien entstehen. Nach der Abschnürung ist in den meisten Fällen ein deutlicher „Schnabel“ zu sehen. Demnach muß dieser Pilz jetzt C a d o p h o r a l i g n i c o l a (Melin et Nannf.) van Beyma nov. comb. genannt werden.

Die Beschreibung der neuen Art lautet folgendermaßen:

---

[1]) Vgl. S. 436.

Cadophora heteroderae (Jacz.) nov. comb.

Myzel unter dem Mikroskop leicht gefärbt mit zahlreichen Öltröpfchen, etwa 3 μ breit, meist zu Strängen vereint, welche eine filzige oder filzig-wollige Decke bilden.

Phialiden fast hyalin, schlank, flaschenförmig mit kurzem Halse, oft in großen Büscheln zusammenstehend, seltener einzeln, meist 8—12 μ lang bei einer größten Breite von 2,3—3,3 μ.

Konidien massenhaft, fast hyalin, mit 2 Öltröpfchen, länglich, ellipsoidisch, 4,3—8,7 × 2,3—3,3 μ, meist 4,3—5,7 × 2,3—3 μ.

Reinkulturen.

Kultur auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 10 Tagen: Kolonie 3½ × 2½ cm, bestehend aus bis 5 mm hohen, gelblichweißen, glatten Hyphenbündeln, am Rande mit einem 2 mm breiten, submersen Saum (Stamm Rozsypal) oder im Zentrum überdies noch mit gelblichweißem, wolligem Myzel, nach dem Rande hin mehr grauschwarz (Stamm C.B.S.). Um die Kolonie herum ein 1—2 mm breiter farbloser Saum. Kaum Geruch. Die Unterseite der Kultur ist schwarzgrau mit grüngelbem Rande.

Kultur auf Röhrchen nach 10 Tagen:

Auf Kirsch-Agar grauwollige Hyphenbündel, von einer flachen, submersen schwarzen Haut aufsteigend. Rückseite schwarz, nach dem Rande hin gelblich.

Auf Möhre: ganz bewachsen mit einer glatten, feuchten, farblosen Haut, welche oben im Röhrchen einige lange Hyphenbündel zeigt. Stellenweise beginnende Dunkelfärbung.

Auf Kartoffelstücken: Zum Teil bewachsen mit einer schwarzgrauen bis grauschwarzen Haut, worauf einige Hyphenbündel.

Auf Kartoffel-Agar: Eine schwarze, glatte Haut mit im Zentrum etwas grauem, wolligem Myzel. Rückseite fast schwarz.

Auf Haferflocken-Agar: Eine gelbe, submerse Haut oder eine schwärzliche Haut, welche nach dem Rande hin gelblich wird. Der Agar ist etwas gelb gefärbt.

Hab. Auf Zysten von Heterodera Schachtii Schmidt in der Tschechoslowakei (Rozsypal). Aus dem Wasser einer Badeanstalt in Rotterdam (C.B.S.).

Cadophora heteroderae nov. spec.

Mycelium subcoloratum, numerosis olei guttis, ca. 3 μ crassum, saepe fasces efformans, phyalidibus gracilibus collo brevi, saepe dense fasciculatis, plerumque 8—12 × 2,3—3,3 μ, numerosis conidiis paene hyalinis duobus cum olei guttulis, oblongis ellipsoidibus, plerumque 4,3—5,7 × 2,3—3 μ.

Hab. in cystibus Heteroderae Schachtii in Slovakia Cecchorum; ex aqua thermarum Roterodamensium.

VIII. Scopulariopsis diversispora nov. spec.

Dieser Pilz wurde von Frl. Bouwens in Nymwegen von den Wurzeln von Buxus sempervirens isoliert, stammt also wahrscheinlich aus der Erde. Wie die meisten Scopulariopsis-Arten wächst der Pilz langsam und bildet auf den meisten Nährböden häutige Decken, worauf erst nach längerer Zeit Konidien entstehen. Am besten wächst er auf Maismehl- und Haferflocken-Agar. Die auf diesen Nährböden entstehenden Kolonien weisen kein Luftmyzel auf, sondern bestehen fast ausschließlich aus Konidien, welche denselben eine braunschwarze Farbe verleihen.

Eigentümlich ist die Bildung von Konidien zweierlei Art; es entstehen sowohl typische Scopulariopsis-Konidien, welche etwa 5 μ groß und stachelig, fast sechseckig, doppelwandig und braun gefärbt sind, wie auch kleine spindelförmige, leicht braun gefärbte Konidien, etwa 3 μ lang und 2 μ breit in langen, mitunter verzweigten Ketten. Beide Konidien-Arten weichen derartig voneinander ab, daß ich anfangs glaubte, mit 2 verschiedenen Organismen zu

tun zu haben und bemühte mich deshalb. die beiden Formen zu isolieren. Jedoch führten Einspor-Kulturen, sowohl von den kleinen wie von den großen Konidien ausgehend, immer zu Kulturen, worin beide Formen vertreten waren, so daß ich deren Zusammengehörigkeit damit für erwiesen erachtete. Aus diesem Grunde habe ich dem Pilze den Species-Namen „diversispora“ gegeben.

Bei mikroskopischer Betrachtung kann man auch beobachten, wie an den Trägern einmal ausschließlich die echten Scopulariopsis-Konidien in verhältnismäßig kurzen Ketten entstehen, ein andermal ausschließlich die spindelförmigen Konidien in langen Ketten; endlich gibt es noch Ketten, welche anfänglich aus spindelförmigen Konidien bestehen, im Verlauf der Kette nehmen sie aber an Größe zu, um in die stacheligen Scopulariopsis-Konidien überzugehen. Mehrmals wurde sogar beobachtet, wie sich inmitten einer Kette von spindelförmigen Konidien eine einzige größere stachelige Spore gebildet hatte. Es scheint demnach, als wenn die spindelförmigen Konidien nur ein Entwicklungsstadium der stacheligen Konidien darstellen, auf dem diese letzteren zurückbleiben können. Die stacheligen Konidien sind also als die fertigen reifen Sporen aufzufassen. Zu bemerken ist noch, daß die spindelförmigen Konidien lange in Ketten verbunden bleiben, die Ketten der stacheligen Konidien dagegen sich leicht in die einzelnen Sporen auflösen.

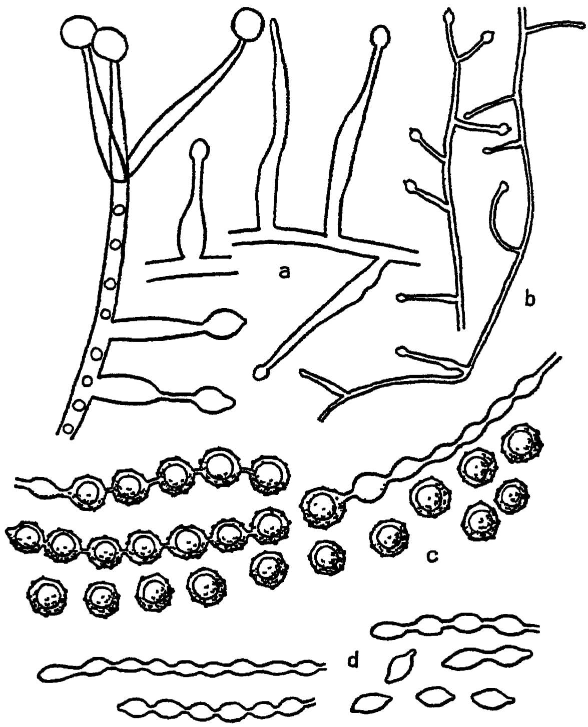


Abb. 1. Scopulariopsis diversispora. a) Konidienträger. Vergr. 1 : 1000. b) Fertile Hyphen. Vergr. 1 : 327. c) Konidien, Scopulariopsis-Form. Vergr. 1 : 1000. d) Konidien, Spindelform. Vergr. 1 : 1000.

Wie schon oben erwähnt, wächst der Pilz normal nur auf Maismehl- und Haferflocken-Agar. Auf Bierwürze- und Kirsch-Agar ist das Wachstum kümmerlich, es entstehen meist nur häutige Beläge, fast ohne Konidien-Entwicklung. Eigentümlich und charakteristisch zugleich ist das Wachstum auf Raulin-Agar. Hier entstehen zahlreiche 2—3 mm hohe Hyphenbündel von intensiv gelber Farbe. Erst nach längerer Zeit werden am Rande der Kulturen Konidien gebildet, welche dann noch meist von spindelförmiger Gestalt sind. Die Beschreibung des Pilzes lautet wie folgt:

Scopulariopsis diversispora nov. spec.

Hyphen unter dem Mikroskop zu unentwirrbaren Knäueln miteinander verwachsen, 1,2—2,7 μ breit, mit zahlreichen Öltröpfchen, leicht braun gefärbt, spärlich septiert.

Konidienträger gerade oder leicht gebogen, hyalin oder leicht gefärbt, meist einzeln von den fertilen Hyphen abgehend, selten verzweigt oder 2 oder 3 beisammen, gleichmäßig nach dem Scheitel hin sich verjüngend, mit langem Halse, 24—30 × 2,7—3 μ, oder von flaschenförmiger Gestalt und dann kürzer, nämlich 13,3—15 × 3,3—3,7 μ.

Konidien zweierlei Größe. 1. spindelförmig, glatt, einzeln hyalin bis leicht gefärbt, in größeren Massen dunkel gelbgrün, in langen, mitunter verzweigten Ketten, bisweilen allmählich in die zweite Form übergehend, 3,3—4 × 2—2,7 μ; 2. rundlich oder fast 6- bis 8-eckig, stachelig, doppelwandig, bräunlich gefärbt, in größeren Massen schwarzbraun bis braunschwarz, in kurzen Ketten mit ganz dünnem Disjunktor, 4,7—5,3 × 4,3—4,7 μ.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale hat sich nach 14 Tagen im Thermostat bei 24° C eine 2 cm große Kolonie gebildet, bestehend aus intensiv gelben Hyphenbundeln, C.d.C. 236, welche im Zentrum eine Höhe von fast 1 cm erreichen und an der Spitze etwas grünlich sind infolge der Bildung von Konidien. Unterseite der Schale etwas gelblich.

Auf Kartoffel-Agar entsteht in derselben Zeit eine 3 cm große Kolonie, aus kurzen, etwa 1—1½ mm hohen Hyphenbündeln bestehend, welche durch üppige Konidienbildung gelbgrün, C.d.C. 173 und puderig sind. Im Zentrum aufrechtstehend, strahlen diese Hyphenbündel flach liegend nach den Seiten hin aus, um sich am Rande der Kolonie wieder als weiße Zone zu erheben. Ein 2—3 mm breiter farbloser Saum umgibt die Kolonie. Unterseite der Kultur fast farblos. Die Konidien, welche gebildet werden, gehören fast alle zur Spindelform.

Auf Raulin-Agar wächst der Pilz unter Bildung intensiv gelber Hyphenbündel, wie auf Bierwürze-Agar, wobei nur wenige Konidien erzeugt werden.

Auf Kirsch-Agar, Möhre- und Kartoffelstücken sowie auf Reis ist das Wachstum sehr mäßig; es entstehen meist submerse Häute ohne Konidien.

Hab. Isoliert von Wurzeln von Buxus sempervirens, wahrscheinlich aus der Erde stammend (Bouwens, Nymwegen).

Scopulariopsis diversispora nov. spec.

Hyphae mycelium densum efformantes numerosis olei guttis, paucis septibus, subbrunneae, 1,2—2,7 μ crassae. Conidiophoris rectis vel curvulis, subbrunneis, plerumque simplicibus interdum ramosis interdum duobus vel tribus conjunctis, ampullaceis oblongis, 24—30 × 2,7—3 μ, vel brevioribus et crassioribus 13,3—15 × 3,3—3,7 μ. Conidiis diversis: 1. radioformibus, levibus, si densis flavo-glaucis subcoloratis; 2. subrotundis vel paene hexagonis aut octogonis, spinosis, cum membrana duplice, si denses bruneonigris, breve catenulatis, tenuissimo disjunctore.

Hab. In radicibus Buxi sempervivi versimiliter e terra orienda.

Zusammenfassung.

Es werden folgende Pilze neu beschrieben: Pseudeurotium zonatum nov. gen. nov. spec., Penicillium sclerotiorum, Penicillium populi, Penicillium equinum, Scopulariopsis lanosa, Torula cephalosporioides, Cadophora heteroderae und Scopulariopsis diversispora.

Referate.

Allgemeines und Methodisches.

Perini, P. E., Bemerkungen über die Verwendung von Filterkerzen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 472—474.)

Bei sämtlichen Filterkerzentypen ist der Übergang von Keimen nach einer gewissen Zeit (die je nach Porosität, Permeabilität und Porendimension der Kerzen verschieden ist) unvermeidlich. Diese Erscheinung wird durch chemische Faktoren (Reichtum an Nährsubstanzen der zu filtrierenden Flüssigkeiten) und durch physikalische Faktoren (Temperatur) angeregt; der Druck hat dagegen keinen Einfluß. Es ist daher notwendig, die Filterkerzen von Zeit zu Zeit zu reinigen, zu waschen und zu sterilisieren.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Knöll, H., Manometrische Messungen an Einzelplatten zur Anaerobenzüchtung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 230—240.)

Es wird eine Versuchsanordnung beschrieben, die gestattet, fortlaufende manometrische Messungen an abgeschlossenen Petrischalen vorzunehmen. Die Methode wurde zur Aufstellung von Unterdruckkurven verwandt zwecks Feststellung der Sauerstoffabsorption und Prüfung der Dichte der zur Anaerobenzüchtung benutzten Verschlüsse. Es ergab sich, daß die üblichen Verschlüsse nicht luftdicht halten, und zwar die Zeresin- und Plastilinverschlüsse in geringerem Grade als der Verschluß mit Metallring („Ringplatte“ nach Kleinsorgen und Jusatz). Wie jedoch aus Kapillarversuchen hervorgeht, beeinflußt die Undichte der Plattenverschlüsse das Züchtungsergebnis nicht wesentlich. Durch das Pyrogallolverfahren werden, dem Unterdruckkurven-Verlauf entsprechend, allerdings schneller als beim biologischen Verfahren (mittels Prodigiosus) für das Anaerobenwachstum günstige Bedingungen geschaffen. Werden auf die Platten nur Anaerobier aufgebracht, so ist mit einem, wenn auch verschieden schnell erreichten, im Endergebnis gleichen Vermehrungserfolg zu rechnen. Gelangt jedoch Material zur Verimpfung, das außer den Anaerobiern auch aerobe Keime enthält, so sind die Verfahren der Sauerstoffabsorption durch alkalisches Pyrogallol vorzuziehen, da bei dem Sauerstoffentzug durch Bact. prodigiosum die aeroben Keime die anaeroben überwuchern können, ehe diese günstige Vermehrungsbedingungen finden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Lorentz, F. H., Die bakteriologische Nährbodenherstellung aus Magermilchpulver. Mit besonderer Berücksichtigung eines Diphtherie-Spezialnährbodens. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1936. S. 522—528.)

Die Aufgabe, aus Milch einen brauchbaren, durchsichtigen Nährboden herzustellen, wurde durch Pepsinierung der Milch gelöst. Verf. ging in folgender Weise vor: 70 g Magermilchpulver werden mit 2 g Pepsin-Witte gemischt, auf 1 l 1proz. Salzsäurelösung (aus reiner, nicht rauchender HCl) langsam aufgestreut und dabei zugleich mit einer Gabel zerschlagen (bewirkt schlagartige Auflösung des Magermilchpulvers). Nach 48 Std. Aufbewahrung bei 37° Filtration durch Papier, bis klare Flüssigkeit abfließt. Anschließend sofortiges Sterilisieren ½ Std. bei nicht über 100°, am besten im Wasserbad.

Diese pepsinierte Magermilchpulver-Lösung (es sollen nur klar gebliebene Flüssigkeiten Verwendung finden) unterwirft man kurz vor Gebrauch noch einer zweiten Sterilisation (1/4 Std. bei 100° im Wasserbad), fügt zu gleichen Teilen einen klaren, sterilen, flüssig gemachten 3 proz. Agar zu und stellt erst dieses Gemisch durch 10 proz. Natron- und Sodalauge auf den gewünschten p_H-Grad ein. Hierauf sofortiges Gießen der Platten oder Röhrchen.

Auf diesem Nährboden soll namentlich die Farbstoffbildung der Bakterien eine ausgezeichnete sein. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Koch, F. E., Einfache Weiterzüchtung von Schankerbakterien (Bact. ulceris cancrosi) auf Schafblutagar in Petrischale als feuchter Kammer. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 251—255.)

Die Arbeit bringt u. a. die eingehende Beschreibung des im hygienischen Institut Köln geübten luftdichten und anaeroben Verschlusses, der sich bei schwer züchtbaren Mikroben sehr gut bewährt hat. Erforderliches Material:

1. Quadratische Glasplatten aus gewöhnlichem Fensterglas (12 × 12 cm) mit abgestumpftem Rand.

2. Filtrierpapier, aus dem Ringe von ungefähr 1 cm Breite ausgeschnitten werden in solcher Größe, daß sie den Rand der umgestülpten Petrischale etwa 1—2 mm überragen. Diese Ringe werden in 10 proz. $CuSO_4$-Lösung getaucht, getrocknet und sind dann unbegrenzt haltbar. Sie haben den Zweck, überschüssiges Kondenswasser aufzufangen, so daß frisch gegossene Nahrböden verwendbar sind; außerdem sind sie ein Schutz gegen Verunreinigungen ($CuSO_4$).

3. Zeresin („Zeresin für Anaerobenzüchtung nach Dr. Koch", Fa. Tromm, Köln-Merheim).

4. Zeresinoliven (Fa. Faust, Köln, Langgasse), die aus einem Glasrohr geblasen werden. Das Rohr ist kurz vor dem Auslauf taubeneigroß nach unten erweitert. Diese Ausweitung ist so gestaltet, daß das Zeresin nicht ohne weiteres in das als Griff benutzte obere, leicht gebogene Glasrohrende zurückläuft. Füllung durch einfaches Hineinstellen in das flüssige Zeresin.

Technik: Vor Beginn der Arbeit wird das Zeresin auf 75—95° erhitzt, so daß es recht dünnflüssig ist. Die Glasplatte wird einige Male durch die Bunsenflamme gezogen, so daß sie nicht mehr beschlägt (das Zeresin haftet am besten auf trockenem Glas). Dann legt man den Filtrierpapierring auf die Glasplatte und stülpt die beimpfte Petrischale so darauf, daß der Papierrand gleichmäßig hervorragt. Schließlich Abdichtung der Petrischale mittels Zeresin (vorzeitiges Ausfließen der Zeresinolive wird durch waagerechtes Halten verhindert). Der Zeresinstreifen soll fast 1 cm breit sein, das Filtrierpapier muß überall von Zeresin überdeckt sein. Eine Olivfüllung reicht für 6 Schalen.

Für die Anaerobenzüchtung werden statt des Filtrierpapierringes die mit trockenem Pyrogallol, Kieselgur und einigen Körnchen Pottasche gefüllten Taschen eingelegt (über die Herstellung der Taschen ist bereits in: Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 132. 1934. S. 358 berichtet worden). Vor dem Verschließen sind die Petrischalen zu beschweren, da sie durch den Taschenrand oft zu sehr von der Glasplatte abgehoben werden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hanne, R., Ein Wort zur Frage der Prüfung von Desinfektionsmitteln. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 214—223.)

Da die Suspensionsmethode als Desinfektionsmittelprüfung die meisten anderen Verfahren an Einfachheit der Ausführung übertrifft und dabei gute Vergleichsresultate liefert, wird sie als Standardmethode vorgeschlagen. Zur

Gewinnung einheitlicher Versuchsergebnisse müßte weiterhin nicht das Abgetötet sein, sondern die Zeit des am Lebenbleibens als Vergleichsmaßstab angegeben werden. Als Testbakterien kommen in erster Linie Coli-Bakterien in Frage, daneben vielleicht noch Staphylokokken und ein Prodigiosus-Stamm. Ein Versuch kann erst dann als abgeschlossen angesehen werden, wenn die Zeitspanne des Überstehens der Giftwirkung durch mehrere einheitliche Versuche mit geringen Abweichungen voneinander festgestellt wurde.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Olin, T. E., Über die desinfizierende bzw. antiseptische Wirkung einiger chemischer Verbindungen in trockenem oder leicht feuchtem Zustand. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 283—287.)

Die Untersuchungen wurden nach der noch nicht veröffentlichten Methode von Nyberg durchgeführt. Diese hat sich als brauchbar erwiesen zur Prüfung der Desinfektionskraft in Wasser unlöslicher bzw. schwer löslicher Substanzen. Das Verfahren ist kurz folgendes: Von der zu untersuchenden Substanz und Talk als indifferenter Grundsubstanz werden in sterilen Schalen folgende Mengen abgemessen:

Zu untersuchende Substanz . .	1 g (100%)	0,75 g (75%)	0,50 g (50%)	0,25 g (25%)	0,10 g (10%)
Talk	—	0,25 g	0,50 g	0,75 g	0,90

Nach sorgfältigem Mischen wird in jede Mischung je 0,1 ccm 24 Std. alte Bakterienbouillonkultur gerieben. Nach 24 Std. Bebrütung bei 37° C werden Agarkulturen angelegt (von jeder Pulvermischung ein kleiner Löffel, 7 mg Talk entsprechend). Bebrütung 24 Std. bei 37°.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Molina, L., Über eine praktische Methode zur Abschätzung und Titrierung der lytischen Tätigkeit des „Bakteriophagen". (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1935. S. 452—457.)

Man gießt Platten mit den zu prüfenden Bakterienarten (1—2 ccm einer Emulsion von einer 24 Std. alten Kultur, mit 3 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt). Zur Verdunstung des Kondenswassers empfiehlt sich Verwendung von Tondeckeln. Die verschiedenen Bakteriophagenverdünnungen (je 1 Tropfen) werden mittels Platinöse strichweise aufgetragen. Beurteilung nach 18—24 Std. Bebrütung bei 37° durch Prüfung der Durchsichtigkeit gegen das Licht. In den Abschnitten, wo der Tropfen der bakteriophagen Flüssigkeit ausgesät wurde, treten je nach der Konzentration des Bakteriophagen verschieden stark aufgehellte Zonen hervor.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Levy, M. H., Das Wesen der Streptokokkendifferenzierung nach Warren Crowe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1935. S. 391—401.)

Die Streptokokkeneinteilung nach Warren Crowe beruht auf der Erfassung von Phasen, die rückbildungsfähige Varianten darstellen, die aber bei Verwendung geeigneter Nährböden konstant genug sind, um bei einiger Übung mit Sicherheit diagnostiziert zu werden. Näheres über die Vielheit der Formen im Original. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Sherman, J. M., and Hussong, R. V., Fermentative variability among substrains of Streptococcus cremoris and Streptococcus lactis obtained from pure cultures. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 20. 1937. p. 101—103.)

Veranlaßt durch gewisse Beobachtungen an Bact. coli (Journ. of Bact. Vol. 33. 1937. p. 315—321) prüften Verff. nach, wie sich Milchsäure-Streptokokken-Kulturen in der Zuckerreihe verhalten, wenn man möglichst viele Unterstämme auf dem Umwege des Plattenverfahrens aus einer einzigen Stammkultur isoliert. Das Ergebnis an Hand von vielen Hunderten auf diese Weise erhaltenen Unterkulturen von Strept. cremoris und Strept. lactis ist wie folgt zusammengestellt:

Stammkultur	Gesamtheit der Unterkulturen	Anzahl Maltose — Saccharose —	Anzahl Maltose + Saccharose —	Anzahl Maltose — Saccharose +	Anzahl Maltose + Saccharose +
Str. cremoris	458	217	229	11	1
Str. lactis	757	0	756	0	1

Interessant ist hierbei, wie viel verschiedenartige Kulturen auf diese Weise aus der Strept. cremoris-Stammkultur erhalten werden konnten, während sich bei Strept. lactis praktisch überhaupt keine Veränderung ergab. Wurden diese Strept. cremoris-Unterkulturen wiederum in gleicher Weise über Platten geführt und daraus je 100 Kolonien isoliert, dann zeigte sich unter diesen Abkömmlingen eine starke Tendenz, Maltose zu vergären und das Säuerungsvermögen von Saccharose zu verlieren. Jedenfalls geht daraus hervor, welche Schwierigkeiten vorhanden sind, eine Differenzierung lediglich nach dem Verhalten in der Zuckerreihe durchzuführen. Ein ungelöstes Problem ist es, warum trotz alledem der Ausgangsstamm sich regelmäßig immer gleichartig in der Zuckervergärung verhielt! Im übrigen nehmen Verff. aber aus ihren Untersuchungen keine Veranlassung dazu, den Strept. cremoris als besondere Art abzuschaffen. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Yawger, E. S. jr., and Sherman, J. M., Variants of Streptococcus lactis which do not ferment lactose. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 20. 1937. p. 83—86.)

Verff. konnten aus Milch 4 Strept. lactis-Stämme isolieren, die nicht in der Lage waren, Milch zum Gerinnen zu bringen. Wenn auch die gebildete Säuremenge in Milch nur sehr gering war (0,03—0,04% als Milchsäure berechnet), so zeigte doch die weitere Untersuchung, daß die Vergärung von Glukose in Bouillon sehr lebhaft war (End-p_H 4,0—4,2). Da im übrigen die Stämme alle Eigenschaften von Strept. lactis aufwiesen und einer der Stämme nach 10 Monate dauernder Kultivierung in Milch in der Lage war, schrittweise die Fähigkeit zur Laktosevergärung zu erwerben, sind die Stämme als natürlich vorkommende Varianten des Strept. lactis aufzufassen.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Sherman, J. M., and Hodge, H. M., The thermophilic and anaerobic nature of Lactobacillus bulgaricus. (Science. Vol. 84. 1936. p. 208—209.)

200 von Verff. frisch isolierte Kulturen von Lactobacillus bulgaricus zeigten Eigenschaften, die von denjenigen der gewöhnlichen Bulgaricus-Stäbchen verschieden waren. So wuchsen sie z. B. nicht so rasch wie diese in der Milch und bei der Isolierung aus Platten ermöglichte erst die Zugabe von 0,5% Natriumsulfit regelmäßig das Auswachsen von Kolonien und die Reinkulturgewinnung. Dies ist ein Beweis für die mehr anaeroben Bedürfnisse der frisch isolierten Bulgaricus-Stämme. Auch besaßen diese eine Maximumtemperatur von 60° C und zeigten noch ein sehr lebhaftes Wachstum bei 55° C, während bei den gewöhnlichen Laboratoriumskulturen das Wachstumsmaximum in der Nähe von 50° C liegt.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Dombrowsky, K. H., Morphologische Studien an Einzelkeimen und Einzellkulturen von Bacterium coli commune. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 160—174.)

Es wurde das morphologische Verhalten mittels Mikromanipulator isolierter Einzelkeime und aus ihnen zur Entwicklung gelangter Einzellkulturen von Bact. coli unter normalen Züchtungsbedingungen und unter Einwirkung von Schädigungen einer eingehenden Prüfung unterzogen.

Unbeeinflußte Einzelkeime zeigten im allgemeinen bezüglich der Struktur, des Teilungsvorganges, der Teilungsgeschwindigkeit und der Weiterentwicklung zur Mikro- und Makro-Einzellkultur keine Besonderheiten.

Geschädigte Einzelkeime neigten zur vorzeitigen Teilung (bevor die Stäbchen zur typischen Durchschnittslänge ausgewachsen waren); die weiteren Teilungen folgten in einem überhasteten Tempo. Bei geschädigten Langstäbchen wurden weiterhin mehrere Teilungen zu gleicher Zeit beobachtet. Dieser Vorgang wird als Zerfall angesehen. Die Lagerung der Teilungsstücke wirkte bei geschädigten Keimen planloser und ungeordneter als bei unbeeinflußten Keimen. Diese bildeten oft schnecken- und floßförmige Mikrokulturen, während die geschädigten Einzell-Mikrokulturen den Eindruck einer gewissen Formlosigkeit erweckten.

Die Kokken- oder C-Formen werden als durch Schädigungen entstandene Produkte eines regressiven morphologischen Prozesses aufgefaßt (Krankheits-, Degenerations-, Kümmer- oder Schutzformen). Vorstufen sind offenbar die vor der Teilung auftretenden Plasmakonzentrationspunkte, die die Granulierung und Segmentierung der Stäbchen bewirken. Die C-Formen werden durch Zerfall der Stäbchen frei, sie können in Doppel-, Ketten- und Haufenform liegen. Sie behalten, ihrer Natur entsprechend, die Eigenschaften ihres bazillären Ausgangsstammes bei; insbesondere wurden die C-Formen von Bact. coli stets als gramnegativ befunden. Bei Herstellung üblicher oder optimaler Züchtungsbedingungen entwickelten sie sich in die typische bazilläre Ausgangsform zurück, sofern der regressive Prozeß nicht schon mit dem Keimtod geendet hatte. Daraus ergibt sich die Unmöglichkeit, Dauerkulturen konstanter C-Formen herzustellen. Durch schädigende Mittel aus Vielzellkulturen von Bact. coli gewonnene Kulturen grampositiver Kokken stellen nicht Kulturen konstanter C-Formen des Bact. coli dar, sondern sind als das Ergebnis einer Kokken-Isolierung aus Stäbchen-Kokken-Mischpopulationen anzusehen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Minkewitsch, I. E., Rabinowitsch, D. J. und Joffe, F. S., Beiträge zur Frage über die Herkunft und sanitäre Bedeutung

der zitratassimilierenden Abarten von Bacterium coli. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 152—160.)

Wie es scheint, neigt Bact. coli dazu, sich nach seiner Ausscheidung aus dem Darm an die umgebende Natur anzupassen. Diese Adaptionserscheinungen äußern sich in der Veränderung der biochemischen Eigenschaften, insbesondere in der Entwicklung der Fähigkeit zur Ausnutzung der Zitrate und zur Saccharosespaltung. Die zitrat-assimilierenden Abarten bilden sich aus Bact. coli nach den Feststellungen Verf.s nach frühestens 6 Monaten. Ihr Nachweis zeugt demnach nicht von frischer fäkaler Verunreinigung, ist also epidemiologisch bedeutungslos, da die pathogenen Bakterien der Darmtyphus-Dysenteriegruppe im Laufe von 6 Monaten in der umgebenden Natur in der Regel zugrunde gehen. Der einzige zuverlässige Indikator der frischen fäkalen Verunreinigung ist das typische zitratnegative Bact. coli commune, das in der freien Natur früher oder später abstirbt. „Nichtfäkale" Rassen von Bact. coli existieren offenbar nicht.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Syrocki, A. V., Fuller, J. E., and France, R. L., Acid production by the Escherichia-Aerobacter group of bacteria as indicated by dissolved metallic iron. (Journ. of Bact. Vol. 33. 1937. p. 185—192.)

In einer Pepton-Glukose-Nährlösung mit Eisenfeilspänen, deren Reaktion durch 0,3% Dikaliumphosphat gepuffert war, vermochte Escherichia coli noch so viel Säure zu bilden, daß das hierdurch gelöste Eisen mit Kaliumferricyanid nachgewiesen werden konnte. Dagegen war die von Aerobacter aerogenes gebildete Säuremenge stets so gering, daß sie von der Pufferungssubstanz neutralisiert wurde und kein Eisen in Lösung ging. So war es möglich, verschiedene Arten und Formen dieser Bakteriengruppe zu unterscheiden. Es wird auch vorgeschlagen, diese Methode bei Untersuchung der Säurebildung aus verschiedenen Kohlehydraten anzuwenden.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Clifton, C. E., A comparison of the metabolic activities of Aerobacter aerogenes, Eberthella thyphi and Escherichia coli. (Journ. of Bact. Vol. 33. 1937. p. 145—162.)

Untersuchungen über die Abhängigkeit des Stoffwechsels der 3 Bakterien aus der Coli-Typhus-Gruppe von verschiedenen Umweltfaktoren führte zur Schlußfolgerung, daß die Konzentrationen des Peptons, der Organismen und der oxydierenden Substanzen in enger Verbindung miteinander die Stoffwechselintensität der Einzelzellen bestimmen. Sie ist am größten zu Beginn des Wachstums wegen des größeren Umfangs der Zellen und der größeren Nährstoffkonzentration in deren Umgebung. In dem Maße, wie die Zellenzahl wächst, nimmt die Stoffwechselintensität der Einzelzelle ab, weil das optimale Redoxpotential verschoben wird und die für die Einzelzelle verfügbare Nährstoffkonzentration abnimmt. Es wird deshalb angenommen, daß die Stärke der Zellvermehrung und die endgültige Zellendichte einer unter günstigen Bedingungen angewachsenen Kultur in erster Linie von der der Einzelzelle in der Zeiteinheit zur Verfügung stehenden Nährstoffmenge bestimmt werden.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Fechner, G., Über Variation eines Aerogenes-Stammes. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1936. S. 487—492.)

Das Auftreten von 3 Wuchsformen Weich, Schleimig und Hart

bei einem Aerogenes-Stamm (Einzellkultur) veranlaßte eingehende Untersuchung der Variantenbildung. Dabei ergab sich für „Weich" und „Schleimig" Reinheit der Linie, während „Hart" stets alle 3 Wuchsformen hervorbrachte. Äußere Faktoren (Wassergehalt des Nährbodens, Salzkonzentration) vermochten wohl das Verhältnis der Kolonieform zueinander zu beeinflussen, jedoch nie vollständig zu ändern.

Die chemische Untersuchung der „schleimigen" Substanz ergab ein Galaktan. Über die Natur der „harten" Kolonien kann noch nichts Endgültiges gesagt werden. Manches spricht dafür, daß es sich um einen Zucker derselben Art wie Galaktan handelt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Petterson, A., Die thermostabilen Bakteriolysine und ihre Beziehungen zu den Mikroben. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 88. 1936. S. 210—226.)

Die bakteriolytische Wirkung des Betalysins (das auf grampositive Mikroben wirkende Bakteriolysin) wird, im Gegensatz zu der des Alexins, bei 0° nicht aufgehoben, sondern nur etwas abgeschwächt oder verlangsamt.

Werden betalysin-empfindliche Bakterien bei 0° mit Serum zusammengebracht, so kann eine bedeutend größere Menge von diesen vernichtet werden als bei 37°. Offenbar wird das Bakteriolysin nach der Einwirkung auf die Mikroben wieder frei, um nachher auf andere Mikroben einzuwirken. Dies tritt natürlich bei 0° stärker in Erscheinung, da bei dieser Temperatur keine merkliche Vermehrung erfolgt. Eine eigentliche Adsorption des Betalysins durch lysin-empfindliche Mikroben findet nicht statt, was die Erklärung dafür ist, daß die Sera durch Behandlung mit betalysin-empfindlichen Mikroben ihrer keimfeindlichen Wirkung diesen gegenüber nicht oder nur unvollständig beraubt werden. Die Mikroben nehmen aber wohl die bisher als aktivierende Substanz bezeichnete Komponente des Bakteriolysins in Beschlag, so daß ein mit betalysinempfindlichen Mikroben behandeltes Serum danach nicht in dem Grade, wie vor der Behandlung, imstande ist, inaktiviertes Serum zu ergänzen. Die sog. aktivierbare Substanz aber nehmen die Mikroben nicht in Beschlag; das mit Bakterien behandelte Serum läßt sich immer noch ergänzen.

Die sowohl auf grampositive als auch gramnegative Bakterien gerichteten bakteriziden Leukozytenstoffe zeigen zwar in mehrfacher Hinsicht Übereinstimmung mit den Betalysinen, doch weicht die keimfeindliche Wirkung jener Stoffe in gewisser Beziehung von der der letzteren bestimmt ab. Es ist deshalb nicht möglich, sie miteinander zu identifizieren.

Die thermostabilen, auf die Bakterien der Coli-Typhus-Gruppe keimfeindlich wirkenden Substanzen des Serums stimmen in mehrfacher Beziehung mit den Leukozytenstoffen überein.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Weissfeiler, J. und Kalinina, L. G., Über die pigmentbildende Varietät des Tuberkelbazillus. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1936. S. 475—486.)

Der beschriebene gelbe Stamm entstand aus einem pigmentlosen Tuberkulose-Stamm durch plötzliches Auftreten der pigmentbildenden Fähigkeit. Diese plötzliche Veränderung wird als Mutation aufgefaßt. Der Stamm hat seine pigmentbildende Fähigkeit seit 2 Jahren beibehalten, ohne in den Ausgangsstamm zurückzuschlagen. Er besaß alle Eigenschaften einer scharf umgrenzten Tuberkelbazillen-Varietät: Irreversibilität, Fähigkeit zur Dissoziation (in R- und S-Variante) unter Beibehaltung der neu erworbenen Eigenschaft. Es wird die Benennung Mycobacterium tuberculosis flavum vorgeschlagen. 'Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schäfer, W., Über die Bakterizidie menschlichen Speichels und insbesondere über seinen Einfluß auf die Natur der Diphtheriebazillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1936. S. 458—468.)

Entgegen den Beobachtungen von Dold und Weigmann konnte im Speichel von 10 gesunden Personen und von 4 Diphtheriepatienten weder gegenüber der Mundflora noch gegenüber Diphtheriebakterien eine Bakterizidie festgestellt werden. Der Speichel (von Gesunden wie Diphtheriekranken) blieb auch ohne Einfluß auf das morphologische und biologische Verhalten von Diphtheriebakterien nach der Rückimpfung auf Loefflerserum (50—60 Speichel-Agarpassagen). Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Pesch, K. L. und Zöllner, A., Über das Vorkommen acidotoleranter Bakterien (Bac. acidophilus, Bac. bifidus) in kariösen Zähnen, Granulomen und in Säuglingsstühlen. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 116. 1936. S. 293—313.)

Bact. acidophilum und bifidum werden als die extremen Vertreter in der Gruppe der acidotoleranten, grampositiven, stäbchenförmigen Darmbakterien aufgefaßt. Zwischen beiden Formen fanden sich alle Übergänge, deren systematische Einordnung um so schwieriger wird, je mehr Untersuchungsmethoden zur Prüfung herangezogen werden. Es wird als gesichert angesehen, daß Bact. acidophilum sich auch an die für Bact. bifidum günstigen kulturellen Bedingungen anzupassen vermag und umgekehrt. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Padwick, G. W., Biologic strains of Ophiobolus graminis Sacc. (Ann. of Appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 45—56.)

In England, Kanada und Australien wurden Ophiobolus-Stämme von Weizen, Queckenarten und Mäusegerste isoliert und hinsichtlich ihrer physiologischen Eigenschaften miteinander verglichen, wobei einige deutliche Unterschiede ermittelt werden konnten, z. B. in der Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknung über Calciumchlorid. Diese Eigenschaft scheint mit der Ausbildung von Makrohyphen ursächlich zusammenzuhängen. Auch die Pathogenität der isolierten Stämme war verschieden groß, und zwar gleichsinnig für alle untersuchten Wirtspflanzen. Umgekehrt waren diese verschieden widerstandsfähig, und zwar ebenfalls gleichsinnig für alle Ophiobolus-Stämme. Bortels (Berlin-Dahlem).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Thaysen, A. C., The origin of an earthy or muddy taint in fish. I. The nature and isolation of the taint. (Ann. of Appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 99—104.)

In einem für die Lachsfischerei wichtigen Fluß wurden Fische gefangen, denen ein auffallender Erd- oder Modergeruch anhaftete. Dieser Duftstoff wurde auch in dem Wasser selbst festgestellt dort, wo der Fluß mit sich zersetzenden organischen Stoffen stark verunreinigt war. Erzeugt wird dieser Stoff, der in Wasser löslich und mit Dampf flüchtig ist, von gewissen Actinomyces-Arten, die sich an den betreffenden Stellen des Flusses auch leicht nachweisen ließen. In konzentrierter Form bildet der Duftstoff eine amorphe braune Masse von durchdringendem Stallmistgeruch.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Thaysen, A. C. und Pentelow, F. T. K., The origin of an earthy or muddy taint in fish. II. The effect on fish of the taint produced by an odoriferous species of Actinomyces. (Ann. of Appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 105—109.)

Forellenfleisch kann einen moderigen oder Erdgeschmack annehmen, wenn die Forellen in Wasser gehalten werden, das mit einem Actinomyces infiziert ist, der solche nach Moder duftenden Stoffe erzeugt. Der Geschmack solchen Forellenfleisches gleicht dem Duft eines actinomycesreichen Schlammes. Es scheint, als wenn der Duftstoff durch die Kiemen in die Blutbahn des Fisches gelangt. Nur durch längeres Verweilen desselben in fließendem klaren Wasser kann er von dem ekelhaften Geschmack befreit werden. Bortels (Berlin-Dahlem).

Schmitthenner, F., Infektionsquellen bei der Süßmostherstellung, insbesondere bei der Abfüllung mit dem EK-Filter. (Die Obst- und Gemüseverwertungsindustrie. 1936. Nr. 17 u. 18.)

Der Altmeister der Süßmostherstellung gibt hier sehr beachtenswerte Ratschläge, wie man Fehler bei der Herstellung von Süßmost vermeiden und dadurch haltbare Getränke erzielen kann. Erste Regel ist eine aseptische Arbeit. Hierbei hilft die Natur mit, weil von dem Heer von Mikroorganismen nur die, welche in sauerem Substrat leben können, für die Süßmostbereitung von Wichtigkeit sind, wie Hefen und ein Teil der Schimmelpilze. Es muß peinlichste Sauberkeit bei der Mostabfüllung herrschen, jede Staubbildung muß unterbunden und die Abfüllräume vor Beginn geschlossen und abgespritzt werden. Durch Wasser werden die umherfliegenden Keime gebunden. Niemals darf ein Füllraum Durchgangsraum sein. Die Flaschen müssen mit einem Einweichmittel gesäubert und dann mit schwefliger Säure sterilisiert werden. Ebenso müssen die Korken in verdünnter (1%) schwefliger Säure lange genug eingeweicht werden. Die Abfüllung und Verkorkung hat in rascher Folge zu geschehen, wobei die Hand, welche die Korken in die Korkmaschine einsetzt, mit Gummihandschuh versehen ist. Wer auf diese Punkte achtet, wird gesunde Süßmoste herstellen können.

K. Müller (Freiburg).

Zimmermann, I. G., Versuche mit neugezüchteten badischen Reinhefen. (Wein u. Rebe. Bd. 18. 1937. S. 352—355.)

Drei aus badischen Mosten gezüchtete Reinhefen, die sich durch gute Eigenschaften besonders auszeichneten, wurden zum Vergären von Mosten in Halbstückfässern (600 l) neben einem Versuch mit Spontangärung verwendet. Dabei zeigte sich, daß eine „Kaltgärhefe" ebenso schnell den Most vergärt wie eine Normalhefe. Die Weine, die mit zwei der neu gezüchteten Reinhefen vergoren waren, zeigten einen sauberen, angenehmen Geschmack, während das Faß mit Spontangärung nicht so sauber schmeckenden Wein lieferte. Infolgedessen wurden zwei Hefen nun auch an die Praxis abgegeben, und zwar eine Sorte „Ihringer Winklerberg" und eine „Kaltgärhefe". Beide wurden aus einem 1934er Ihringer Rieslingwein mit 106° Oechsle gezüchtet.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Davis, J. G., Some biochemical aspects of cheese ripening. (Journ. Soc. Chem. Ind. Vol. 54. 1935. p. 631—635.

Für die Beurteilung der Käsereifung kommen folgende 3 Faktoren in Betracht: 1. Geschmack und Geruch, 2. Festigkeit und Gefüge, 3. Eiweißabbau. Dies möge im nachstehenden für ein paar typische Käse erklärt werden.

Cheddar-Käse: Was zunächst das Lab betrifft, so besitzt es mindestens 4 verschiedene Enzyme: 1. Pepsin (Wirkung bei p_H-Werten unter 4,6); 2. das Labpapain (Wirkung nur beim isoelektrischen Punkt des Kaseins, p_H 4,6); 3. die

Labpeptidase (scharfes Optimum bei p_H 6,2) und 4. das Ausfällungsenzym. Da nun der Cheddar-Käse beim Reifen die p_H-Stufen von ungefähr 4,9—5,6 durchläuft, kommt eine Pepsinwirkung für den ersten Eiweißabbau beim Cheddar-Käse nicht in Frage, wohl aber eine Papainwirkung. Mit steigendem p_H wird auch die Peptidase aktiver. Auch beim Cheddar-Käse gibt es sog. Stinkerkäse (Putrificusgärung nach 5—6 Monaten bei p_H 5,6). Es ist von einigen behauptet worden, daß es Streptokokken gibt, die typisches Cheddar-Aroma bilden, aber ihre Verwendung als Säurewecker hat keine guten Ergebnisse gezeitigt. Was überhaupt das sog. Cheddar-Aroma betrifft, so gibt es hierfür keinen absoluten Standard. — Die Reifung der Blauschimmel-Käse (Roquefort, Gorgonzola oder Stilton) hat gegenüber der Cheddarkäse-Reifung interessante Besonderheiten. Während die Frühstadien dieser Käse eine gewisse Ähnlichkeit mit denen des Cheddars besitzen, wird im weiteren die Reifung eindeutig durch die Tätigkeit des Schimmels bestimmt. Wichtig ist, daß Sauerstoff in das Innere des Käses eindringt, was heute künstlich durch Anstechen herbeigeführt wird. Da diese Käse nicht gepreßt werden und demnach auch mehr Feuchtigkeit und mehr Laktose als Cheddar-Käse enthalten, besitzen sie anfänglich auch mehr Milchsäure bei einem tieferen p_H. Während bei der Cheddarkäse-Reifung die flüchtige Säure meist aus Essigsäure besteht, geht die Reifung beim Roquefort-Käse mit der Erzeugung von höheren flüchtigen Säuren einher, wie z. B. von Capron-, Capryl- und Caprinsäure. Der Stilton unterscheidet sich vom Roquefort durch das später einsetzende und langsamere Wachstum des Pilzes, auch treten dessen Stoffwechselprodukte nicht so stark in Erscheinung wie beim Roquefort. Die p_H-Zone, die ein Stilton durchläuft, variiert von 4,5 bis zu ungefähr 7,0. — Die Tatsache, daß Chinhydron mit Aminoverbindungen eine rosa Farbe erzeugt und daß die Stärke der Farbstoffbildung mit der Zahl der vorhandenen Hydroxylionen und NH_2-Gruppen zunimmt, kann zur Anstellung einer einfachen Reifungsprobe verwendet werden. Je reifer der Käse, um so rascher wird die rosa Farbe auftreten. Man mischt einfach den für die p_H-Bestimmung hergerichteten Käse mit ein bißchen Chinhydron und beobachtet an Hand eines Standards, wie rasch die Rosafärbung eintritt.

Zum Schluß macht Verf. einen Vorschlag zur Standardisierung von Käse, die auf der Prüfung folgender Eigenschaften aufgebaut ist: 1. Farbe, 2. Gefüge, 3. Feuchtigkeits-, Fett-, Kochsalz- und Kalziumgehalt, gegebenenfalls Menge der flüchtigen Säuren und Art der Stickstoffverteilung, 4. p_H, 5. Geschmack und Geruch. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Beynum, J. van und Pette, J. W., Bacteriologische Onderzoekingen over ensileering met toevoeging van zure vei, ondermelk of suiker. [Bakteriologische Untersuchungen über die Ensilierung von Grünfutter unter Beifügung von saurer Molke, Magermilch oder Zucker.] (Versl. van Landb. Kund. Onderzoek. Nr. 42 [17] C. 1936. S. 735—772.)

In der letzten Zeit wurde in den Niederlanden viel Silagefutter unter Zufügung von saurer Molke, saurer Magermilch oder Buttermilch hergestellt, um die Qualität zu verbessern. Verff. führten Laboratoriums-Untersuchungen darüber aus, inwieweit diese Verfahren zweckentsprechend sind. Zusammenfassend kann über das Ergebnis dieser Versuche gesagt werden, daß die günstige Wirkung von Molke (und auch Magermilch) auf die Silagebereitung durch den vorhandenen Milchzucker ausgeübt wird und durch den Feuchtigkeitsgehalt, der die Silage in einen homogenen Zustand bringt. Es zeigte sich weiterhin, daß eine gute Wirkung auch durch Zufügung von Rohrzucker erzielt wird, der aber in Rücksicht auf die Homogenität nicht in trockener, sondern in gelöster Form zugegeben werden muß. Beim Studium der Bakterienflora von Silagefutter ohne Molkenzugabe war während der ersten Periode eine heftige Gärung durch die Graskokken zu beobachten. In der zweiten Periode waren diese abgestorben und die Säuerung wurde fort-

gesetzt durch die Grasstäbchen (Streptobact. plantarum). Dies ist darauf zurückzuführen, daß die Langstäbchen sich langsamer entwickeln als die Kokken, dafür aber dann mehr Säure bilden. In alter Silage konnten die stark säuernden Langstäbchen in größeren Mengen nicht mehr gefunden werden. Bei schlechter Qualität waren noch viele Graskokken mit geringer Säurebildungskraft vorhanden. Langstäbchen von geringer Säuerungskraft traten normalerweise in jeder Silage ganz besonders reichlich nur während der ersten Fermentationstage auf. Wurde zu dem Silagefutter eine große Menge Molke gegeben, so enthielt dieses in der ersten Periode praktisch nur Milchsäurestreptokokken, wie sie für die Milch typisch sind. Diese säuerten bis zu einem gewissen Grad an Stelle der Graskokken, aber es war weiterhin keine Steigerung in der Säurebildung zu beobachten. Wurde das Futter mit einer großen Menge einer Molkenkultur von Streptobact. casei beimpft, so konnten diese Langstäbchen zwar während aller Perioden des Fermentationsprozesses festgestellt werden, aber in der Regel waren auch die stark säuernden Grasstäbchen während der zweiten Periode vorhanden. Somit zeigt auch die bakteriologische Untersuchung, welch geringen Wert die aus der Milch stammenden Milchsäurebakterien für Silagezwecke besitzen, einen Vorteil bringen sie nicht. Zum Schluß besprechen Verff. einige seltene Fälle, in denen keine Buttersäurebildung beobachtet wurde, obwohl eine solche auf Grund vorhandener Azidität zu erwarten war. In diesen Silagen konnte eine abnorm große Menge von Essigsäure nachgewiesen werden.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Tanner, F. W., Schneider, D. L., Effect of temperature of storage on bacteria in water samples. (Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. Vol. 32. 1935. p. 960—965.)

Verff. hielten verschiedene, z. T. mit Reinkulturen beimpfte Wasserproben ein bis mehrere Tage lang bei Temperaturen um 4, 21 und 37° C. Sie kommen zu dem nicht neuen Ergebnis, daß zur hygienisch-bakteriologischen Untersuchung bestimmte Wasserproben kalt aufbewahrt werden sollen, da hierbei ihre Keimzahl im wesentlichen konstant bleibt. Geringe Schwankungen in beiden Richtungen können innerhalb der Fehlergrenze der Keimzählung liegen. Die Fähigkeit der Milchzuckervergärung geht bei der Aufbewahrung bei niedriger Temperatur nicht verloren. Das Verhalten der Bakterien während der Aufbewahrung ist stark abhängig von der Eigenart der einzelnen Stämme.

C. R. Baier (Kiel).

Rakestraw, N. W., The occurrence and significance of nitrit in the sea. (Biol. Bull. Vol. 71. 1936. p. 133—167.)

Einer der veränderlichsten Faktoren im Chemismus des Meeres ist der Nitritgehalt. Analysen nahe beieinanderliegender Stationen oder einer Station zu verschiedenen, doch wenig differierenden Zeiten geben oft sehr verschiedene Werte. Die Ursachen dieser starken Schwankungen sind noch unbekannt. Nitrit kann durch Ammonoxydation oder Nitratreduktion bakteriell, photochemisch oder katalytisch entstehen. Bakteriologisch interessieren besonders folgende Ergebnisse der mitgeteilten Untersuchungen. Im Dunkeln aufbewahrte sterilisierte und nicht sterilisierte Proben zeigten, auch wenn Nitrat oder Ammonium zugesetzt war, im Laufe von 3 Wochen keine wesent-

liche Änderung der Nitritmenge. Wurden die Proben jedoch im Hellen aufbewahrt, so trat bei hohem Anfangsgehalt eine Abnahme, bei niedrigem eine Zunahme der Nitritmenge ein. In beiden Fällen war sie nach 3 Wochen etwa gleich. Der Nitritschwund war in Gegenwart größerer Nitratmengen schwächer, die Zunahme stärker. Diese Beobachtungen scheinen die von früheren Autoren vermutete photochemische Nitratreduktion zu bestätigen, während bakterielle Umsetzungen dagegen zurücktraten. — Der Nitrit- und Nitratgehalt des Schlammes war stets, z. T. bedeutend höher als der der bodennahen Wasserschichten. Verf. schließt daraus, daß durch die Zersetzung der organischen Stoffe am Meeresboden die Oxydation der N-Verbindungen zu NO_2 und NO_3 gefördert wird. (Das wäre bakteriologisch durch eine Aktivierung der Nitrit- und Nitratbakterien durch organische Verbindungen in gewisser Konzentration oder und größeres NH_4-Angebot zu erklären. Ref.) Zusammenfassend wird die Rolle des Nitrits im Stickstoffkreislauf des Meeres besprochen. Verf. kommt u. a. zu dem Schluß, daß im Gegensatz zu den Anschauungen von Brujewicz und Braarud und Klem Nitrit sowohl im Wasser wie auch im Schlamm durch oxydative Prozesse, nicht durch Nitratreduktion entsteht. C. R. Baier (Kiel).

Hotchkiss, M., Waksman, S. A., Correlative studies of microscopic and plate methods for evaluating the bacterial population of the sea. (Journ. Bact. Vol. 32. 1936. p. 423—432.)

Verff. vergleichen die Ergebnisse von Plattenzählungen, direkten mikroskopischen Zählungen und Zählungen der auf untergetauchten Objektträgern angehefteten Bakterien (nach Henrici) frischer und verschieden behandelter Seewasserproben miteinander. Dabei glauben sie, eine direkte Beziehung zwischen den Logarithmen der Ergebnisse der Plattenzählungen und der Zählung der anhaftenden Bakterien feststellen zu können. (Wenn auch gewisse, nicht genauer definierte Beziehungen zwischen diesen Werten nicht unwahrscheinlich sind, — die Untersuchungen von Henrici deuten darauf hin, während ZoBell dergleichen nicht beobachtete, — erscheint doch die Annahme einer so engen Beziehung so bemerkenswert, daß sie stärkster experimenteller Stützung bedarf. Das von den Verff. angeführte Material von 151 Beobachtungen dürfte zumindest zur Ableitung von Formeln und Konstanten nicht ausreichen. Auch deuten u. E. in der graphischen Darstellung von Abb. 1 allein die Ergebnisse der Reinkulturversuche auf eine geradlinige Beziehung zwischen den Logarithmen der Plattenzählung und der Zählung der anhaftenden Keime hin. In diesem Falle ist eine solche Beziehung ja auch am ehesten zu erwarten. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung dürften danach für die Hydrobakteriologie von größtem Interesse sein. Ref.) C. R. Baier (Kiel).

ZoBell, C. E., Anderson, D. Q., Observation on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea water and the influence of the oxygen tension and solid surfaces. (Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Vol. 71. 1936. p. 324—342.)

Bei Aufbewahrung von Seewasserproben wird bekanntlich zunächst eine Zunahme der Keimzahl des Wassers beobachtet. Dieses Ansteigen der Keimzahl ist in Gefäßen kleineren Volumens stärker als in solchen größeren Volu-

mens. Als Ursache hierfür wird das mit zunehmendem Volumen ansteigende Verhältnis von innerer Oberfläche des Gefäßes zum Volumen des eingeschlossenen Wassers ermittelt. Wie aus früheren Arbeiten von ZoBell hervorgeht, besteht ein großer Teil der Meeresbakterien aus fakultativen und obligaten Epiphyten. Diese Formen werden bei großem Verhältnis von fester Oberfläche zum Volumen des Wassers die Gesamtzahl der Keime wesentlich erhöhen. Auch die Aktivität der Bakterien ist in kleinen Volumen gegenüber größeren verstärkt. Dies ist u. a. an der Sauerstoffzehrung ersichtlich. Der Effekt des Volumens der Wasserprobe tritt nur in stark verdünnten Lösungen in Erscheinung. Bei Zusatz geringer Mengen organischer Stoffe zum Seewasser tritt er zurück. (Diese Ergebnisse der Verff. sind nicht nur von theoretisch-hydrobakteriologischer Bedeutung. Sie sind auch bei der Diskussion der Methodik mancher limnologischer und bakteriologischer Untersuchungen zu beachten. Ref.) C. R. Baier (Kiel.)

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Riehm, E., Pflanzenschutzmittel-Industrie und Vierjahresplan. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 50. 1937. S. 173—175.)

Im Rahmen des Vierjahresplans fallen der Pflanzenschutzmittel-Industrie zwei Aufgaben zu: 1. soll sie ebenso wie andere Industrien besorgt sein, die ausländischen Rohstoffe durch gleich wirksame heimische Stoffe zu ersetzen, 2. soll sie mit erhöhtem Nachdruck daran arbeiten, gegen solche Pflanzenkrankheiten und Schädlinge wirksame Mittel zu finden, gegen die man bisher noch keine oder nur unzureichende Bekämpfungsmittel kennt. Außerdem ist der Pflanzenschutz als solcher nach Möglichkeit auszubauen.

Als Saatbeizmittel verwendet man allgemeine Quecksilberbeizmittel, da nur diese die gewünschte universelle Wirkung bei der Bekämpfung von Weizenstinkbrand, Haferflugbrand, Schneeschimmel des Roggens und Streifenkrankheit der Gerste aufweisen. Es ist aber kein Zweifel, daß der Quecksilbergehalt erheblich gesenkt werden kann. Als Spritz- und Stäubemittel gegen parasitische Pilze verwendet man Kupfer- und schwefelhaltige Mittel. Im Obstbau sind bereits erfolgversprechende Versuche mit kupferarmen Mitteln durchgeführt worden, im Weinbau muß dasselbe erreicht werden. Spritz- und Stäubemittel gegen tierische Schädlinge enthalten vielfach Arsen. An arsenfreien Mitteln stehen Pyrethrum, Derris und Nikotin zur Verfügung, die beiden ersten werden ganz, Nikotin zum Teil aus dem Ausland bezogen. Die Nikotinerzeugung im Inland kann aber erhöht werden. Zur Winterspritzung der Obstbäume kommen nur noch Karbolineen aus Schwerölen in Frage. Bei der Nagetierbekämpfung könnte man auf das Auslandsprodukt Strychnin verzichten; wie weit bei den sogenannten Mangelkrankheiten auf Kupfersulfat und Borax verzichtet werden kann, wäre zu prüfen.

Was die zweite Aufgabe betrifft, so fehlen noch billige Bekämpfungsmittel gegen tierische Schädlinge im Boden, ebenso gegen parasitische Pilze und Bakterien. Auch dem Köderproblem und den Holzschutzmitteln ist entsprechende Aufmerksamkeit zu widmen. Heuß (Berlin).

Zander, E., Bienenzucht und Schädlingsbekämpfung. (Anz. f. Schädlingskunde. Jahrg. 13. 1937. S. 28—31.)

Verf. bedauert, daß das in den Erlanger Richtlinien (1933) aufgestellte Hauptziel: die Vermeidung des Arsens als schlimmstes Bienengift, bis heute

nicht durchgeführt werden konnte. Gegen die Gefährlichkeit des Arsens wird die Ungefährlichkeit der Winterspritzung mit Karbolineum hervorgehoben. Ebenso sind die eisen-, kupfer- und schwefelhaltigen Mittel weniger gefährlich. Das gilt auch für die meisten pflanzlichen Mittel wie Nikotin, Pyrethrum, Derris usw., die ihre Wirksamkeit rasch an der Luft verlieren. Aber auch Arsen braucht die Bienen nicht zu schädigen, wenn es zur richtigen Zeit in rechter Weise angewendet wird. Solange die Blüten offen sind und von den Bienen besucht werden, darf unter keiner Bedingung etwas gegen die Schädlinge unternommen werden, zumal der Erfolg der Bekämpfung vor und nach der Blüte genau so groß ist. — Berührungsgifte sind meist ungefährlicher für die Bienen, außer wenn diesen zwecks besserer Haftfähigkeit Zucker zugesetzt ist, sei es auch nur 1%. Stäubemittel, besonders arsenhaltige, sind gefährlicher als Sprühmittel, da sie von den Bienen wie Pollen gehöselt und in den Stock eingetragen werden. Verf. hebt in diesem Zusammenhang hervor, daß Arsenmittel in Verbindung mit Schwefelkalkbrühe abschreckend auf die Bienen wirken. Zum Schluß werden verschiedene gesundheitliche Maßnahmen zur Rettung der Bienen vor Vergiftung verlangt.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Böttcher, F. K., Bienensterben durch Schädlingsbekämpfung. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 50. 1937. S. 81—84.)

Untersuchungen des Verf.s haben ergeben, daß die Arsenmittel für Bienen regelmäßig gefährlich sind, wenn sie auf blühende Pflanzen gebracht werden. Eine Ausnahme stellt nur die blühende Rebe dar. In seltenen Fällen schaden sie ihnen auch unter anderen Umständen. Im Interesse einer reibungslosen Zusammenarbeit zwischen Pflanzenschutz und Bienenzucht ist ihr Ersatz durch andere Mittel anzustreben. Derartige Mittel sollen ihre Wirksamkeit nicht länger beibehalten, als es aus Gründen der Schädlingsbekämpfung notwendig ist. Außerdem erscheint die Aufgabe nicht unlösbar, für Pflanzenschmarotzer giftige, für Bienen unschädliche Mittel aufzufinden.

Heuß (Berlin).

Reckendorfer, P., Über den Zerfall des Kupferkalkbrühe-Komplexes. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz. Bd. 46. 1936. S. 418—438.)

Die fungizide Wirkung der Kupferkalkbrühe suchte man durch verschiedene Theorien zu erklären, doch scheint am wahrscheinlichsten die Lösung von Kupferverbindungen unter dem Einfluß der Luftkohlensäure und die Verhinderung der Sporenkeimung durch das gelöste Kupfer. Verf. sucht nun die Frage zu klären, welche Art von atmosphärischen Einflüssen im Rahmen chemischer Prozesse einen molekularen Umbau der frisch verspritzten Kupferkalkbrühe bedingen. Hierzu stellt er zahlreiche chemische Versuche an, die die Annahme von der Einwirkung der Luftkohlensäure auf die langsame Zersetzung des Kupferbelages stärken und die praktische Notwendigkeit zeigen, rechtzeitig, vor Auftreten des Pilzes, die notwendigen Kupfermengen auf die grünen Pflanzenteile zu bringen.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Reckendorfer, P., Zur Physikochemie der Kupferkalkbrühe. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz. Bd. 45. 1935. S. 341—353.)

Die Haftfähigkeit (Regenbeständigkeit) ist bei Spritzmitteln von größter Bedeutung. Verf. erblickt den „Träger“ der Haftfähigkeit bei der Kupferkalkbrühe in deren chemisch-physikalischem Verhalten. Es ist bekannt, daß

eine richtig und frisch hergestellte Kupferkalkbrühe sehr gut haftet und deshalb besondere Haftstoffe der Brühe nicht zugesetzt werden brauchen. Mit steigendem Kalkgehalt nimmt die Haftfähigkeit der Kupferkalkbrühe zu, um im Bereich der molekularen Absättigung ihren Höhepunkt zu erreichen und sogleich wieder rückläufig zu werden.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Sass, J. E., Histological and cytological studies of ethyl mercury phosphate poisoning in corn seedlings. (Phytopathology. Vol. 26. 1936. p. 95—99, 2 figs.)

Bei Behandlung des Saatkornes mit Äthylmercuriphosphat werden an jungen Maispflanzen krankhafte Verdickungen hervorgerufen. Die Zellen in diesen Verdickungen sind vielkernig. Die Größe der Kerne ist sehr verschieden. Die größten Kerne sind polyploid. Die Vielkernigkeit und die Bildung von kleinen und sehr großen Kernen ist auf abnormale unvollständige Mitose zurückzuführen. Winkelmann (Münster i. W.).

Schwab, H., Die Verwertung steigender Kaligaben durch die Hopfenpflanze. (Die Ernährung der Pflanze. Bd. 32. 1936. S. 373—376.)

An 5jährigen Hopfendüngungsversuchen, bei denen neben einer Grunddüngung von 30 kg P_2O_5 und 30 kg N gestaffelte Kaligaben von 20, 30, 40 und 50 kg K_2O je 1000 Stöcke verabfolgt wurden, wurden u. a. auch Beobachtungen über den Schädlingsbefall (Erdflöhe, Blattläuse, rote Spinne und Peronospora) angestellt. Anfangs wurden in den unterschiedlich gedüngten Parzellen keine, später nur mäßige Krankheitsunterschiede festgestellt. Die Schäden kamen auf den Kalimangelparzellen stärker zum Ausdruck, während sie auf den übrigen Teilstücken weniger auffällig waren und meist rasch ausheilten. Nur bei roter Spinne war auf den Kalimangelparzellen ein einwandfrei stärkerer Befall zu beobachten. H. Richter (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Kuilman, L. W., Symptomen van de „Mentek"-ziekte van de rijstplant. (Symptome der Mentek-Krankheit der Reispflanze.) (Korte Meded. Algem. Proefst. Landb. No. 20. 1936. Buitenzorg. S. 1—18.)

Eine Krankheit, welche schon seit mehr als 70 Jahren die Reispflanzen befällt, wird von der malayischen Bevölkerung mit dem Namen „Omo mentek" oder „Omo bambang" belegt; über die Ursache derselben ist man jedoch noch nicht im Klaren. Eine große Schwierigkeit bei den Untersuchungen ist, daß es an einer genauen Beschreibung der Krankheit fehlt, da alle Versuche, die Mentek-Krankheit bei in Nährlösungen gezogenen Pflanzen hervorzurufen, scheiterten. Verf. studierte die Krankheit zuerst auf freiem Felde an Pflanzen einer äußerst mentek-empfindlichen Varietät, später in Nährlösungen nach Zinzadze. Ein Merkmal der Mentek-Krankheit ist u. a. das Vergilben der Blätter. Dasselbe tritt aber auch auf bei Phosphatmangel. Anfangs war denn auch ein Unterschied zwischen den Mentek-Pflanzen und den normalen, jedoch an Phosphatmangel leidenden Pflanzen nicht bemerkbar. Später erholten letztere sich vollkommen, nur das Laub der Mentek-Pflanzen wurde immer gelber, während zugleich ein Stillstand im Wachstum

auftrat, so daß die Blätter stark verkürzt erschienen. Weitere Versuche bestätigten, daß diese Erscheinung typisch für die Mentek-Krankheit ist. Die Versuche mit Nährlösungen ergaben, daß Kalimangel ebenfalls stark verkürzte Blätter zur Folge hat. Die Vermutung, hierin also die Ursache der Mentek-Krankheit zu sehen, muß noch durch Feldversuche bestätigt werden. In dem Falle wäre die Krankheit zu verhüten durch besondere Kaligaben während der 4 Wochen, die die jungen Pflänzchen in der Pflanzschule verbringen müssen. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Löhnis, Marie P., Ziekteverschijnselen bij aalbessen veroorzaakt door de minerale voeding. (Krankheitserscheinungen bei Johannisbeeren, verursacht durch Mineralernährung.) (T. o. P. Heft 2. 1937. S. 33—48, mit 5 Tab. u. 7 Taf.)

Diese Versuche, ursprünglich aufgestellt um die Erscheinungen der Chlorschädigung bei Johannisbeeren zu studieren, wurden auch ausgedehnt auf Krankheiten, verursacht durch Kalimangel (Blattranddürre, holl.: „Randjesziekte"), Bormangel und Mineralernährung.

Chlorschädigung. Die Versuche wurden in Töpfen mit verschiedenen Nährlösungen ausgeführt. Durch Überschuß von Cl-Ionen entsteht eine typische Schädigung der Blätter: es tritt eine Spitzendürre ein, welche in geringerem Maße auch an den Blatträndern entlang verläuft, in der Weise, daß die rostbraune Verfärbung schließlich durch eine gerade Linie von dem gesunden Blattgewebe abgegrenzt wird. Die Farbe variiert etwas mit dem zugefügten Salze: bei $CaCl_2$ ist dieselbe ausschließlich rostbraun, bei KCl überwiegt die rostbraune, bei NaCl die graubraune Farbe. In mäßiger Konzentration zugefügt üben KCl und $CaCl_2$ einen günstigen Einfluß aus auf die Entwicklung der Stecklinge. Bei größeren Mengen ist NaCl am meisten schädlich, dann folgt $CaCl_2$ und schließlich KCl. Im allgemeinen kann man sagen, daß Johannisbeeren dem Cl-Ion gegenüber sehr empfindlich sind.

Kalimangel. Im Jahre 1933 gelang es Verf.n durch Weglassen von Kalium in der Nährlösung, bei den Pflanzen „Randjesziekte" hervorzurufen, eine Dürre, welche dem Blattrande parallel verläuft. Die Krankheit kann sich aber auch auf andere Weise äußern, und zwar als große weinrote Verfärbungen, die vom Rande her in die Blattspreite vordringen und von einem Blattnerv begrenzt werden.

Bormangel verursacht eine Dürre der jüngsten Blätter.

Mineralernährung. Zufügung von 0,02 n-Lösungen von Na_2SO_4, K_2SO_4 oder KNO_3 verursacht eine typische Blattschädigung. An den Blattspitzen, oft am Blattrande entlang, entsteht nämlich eine rotviolette Verfärbung, welche bald an der Außenseite rotbraun wird, und ein Aufrollen der Spitzen zur Folge hat. Die der Blattbasis zugewendete Seite zeigt dann deutliche, 1 mm breite, rotviolette, parallelverlaufende Zonen, wo zwischendurch das Blattgrün noch sichtbar ist. Die Ursache dieser Erscheinung konnte aber nicht festgestellt werden.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Abgeschlossen am 15. Juli 1937.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 96. No. 24/26
Ausgegeben am 27. September 1937.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Appel, O., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 6. Band: Pflanzenschutz (Verhutung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten). 1. Lieferung. Berlin (Paul Parey) 1937. Preis 16,20 RM.

Das rühmlichst bekannte „Sorauersche" Handbuch der Pflanzenkrankheiten hat mit dem vorliegenden Band eine Erweiterung erfahren, welche allseitig freudigst begrüßt werden wird. Die Behandlung des Pflanzenschutzes und der damit im Zusammenhang stehenden Probleme rückt auch diesen Zweig der Pflanzenpathologie in das rechte Licht. Sie zeugt von der Arbeit, welche auf diesem Gebiet geleistet worden ist und legt zugleich die Grundlage für die weitere Ausgestaltung, indem sie uns die Lücken unserer Erkenntnis klar vor Augen stellt. Zugleich kommt auch sinnfällig zum Ausdruck, daß der Pflanzenschutz als selbständige Disziplin gewertet sein will. Es mußte zwangsläufig erfolgen, daß „neben der Kenntnis der Ursachen und der Entwicklung der Pflanzenkrankheiten nunmehr auch die Vorbeugung und die Heilung auf eine breitere wissenschaftliche Grundlage gestellt werden mußten". Welche Bedeutung diesen Aufgaben, als Gesamtheit betrachtet, zukommt, das zeigt uns der einleitende Abschnitt von H. Morstatt über die wirtschaftliche Bedeutung des Pflanzenschutzes, die „nicht mehr nur als Angelegenheit des produzierenden Pflanzenbaues anzusehen ist, sondern sich durch Übergreifen auf die Sicherung der Volksernährung . . . als ein Faktor volkswirtschaftlichen Interesses auswirkt". Wir heben aus dem Inhalt dieses Abschnittes nur die Art der Schäden und die Ermittlung der Schadenswerte, die Kosten der Pflanzenschutzmaßnahmen und die Erfolge des Pflanzenschutzes hervor. Wenn der Verf. an einer Stelle hervorhebt, daß im klimatischen Optimum einer Kultur wie die übrigen Faktoren auch die Pflanzenkrankheiten im allgemeinen eine geringere Rolle spielen, so widerspricht dies der Auffassung anderer Autoren. Diese betonen, daß die Kulturen innerhalb ihres eigentlichen Lebensraumes „echten Seuchen" ausgesetzt sind, deren Ansteckungsfähigkeit um so größer ist, je mehr der Erreger auf den gleichen Lebensraum spezialisiert ist. — Die nächsten Abschnitte gruppieren sich um die Darstellung der Verhütung des Auftretens von Pflanzenkrankheiten und -schädlingen (Hygiene). In dem von H. Braun bearbeiteten Kapitel wird in überaus gelungener Darstellung der Einfluß der Kulturmaßnahmen behandelt. Wenn die stoffliche Verarbeitung auch mehr einen lehrbuchmäßigen Charakter besitzt, so verliert sie dadurch auch in diesem Rahmen nichts von ihrem Wert, kritisch werden Tatsachen und Möglichkeiten abgewogen und die Lücken unserer Erkenntnis aufgezeigt. Es bleibt das Verdienst des Verf.s, die Pflanzenhygiene in den Blickpunkt des Interesses gestellt zu haben. — Die anschließend behandelten Entseuchungsmaßnahmen gliedern sich in zwei Abschnitte: Bodenentseuchung (H. Thiem) und Saat- und Pflanzgutentseuchung (E. Riehm). Die biologischen, physi-

kalischen und chemischen Möglichkeiten der Bodenentseuchung erfahren eine eingehende Würdigung, wobei besonderer Wert auf eine ausführliche Berücksichtigung des Schrifttums gelegt wurde. So erklärt es sich, daß wir hier eine Fülle von Einzelangaben aneinandergereiht finden. Die Saat- und Pflanzgutentseuchung umfaßt das Beizen des Getreides und anderer Sämereien, Zwiebeln und Knollen. Aus einer langjährigen Erfahrung schöpfend, hat die Getreidebeizung eine umfassende und vielseitige Darstellung durch den Verf. gefunden, was zugleich zum Ausdruck bringt, daß unsere Erkenntnis auf diesem Gebiet auch am weitesten vorgedrungen ist. Es bleibt zu hoffen, daß die übrigen Unterabschnitte, von denen noch die Entseuchung von Stecklingen und ganzen Pflanzen zu erwähnen ist, später eine ähnliche Ausgestaltung erfahren können. Den Abschluß dieser Lieferung bildet ein Kapitel, das sich mit den Quarantänemaßnahmen befaßt (H. Braun), in dem die Grundlagen der Absperrmaßnahmen und ihre Durchführung behandelt werden. M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Karsten, G. und Weber, U., Lehrbuch der Pharmakognosie für Hochschulen. 5. Aufl. Jena (Gustav Fischer) 1937. 574 Abb., 420 S. Brosch. RM. 18.—, geb. RM. 20.—.

Die 5. Auflage von „Karstens Lehrbuch der Pharmakognosie" wurde dem neuen, erweiterten Studienplan für Pharmazeuten angepaßt und als Mitarbeiter Herr Prof. Weber gewonnen. Das Lehrbuch ist, abgesehen von einer kurzen, einleitenden historischen Übersicht der Drogenkunde, im wesentlichen eine spezielle Pharmakognosie. Neu aufgenommen wurden die wichtigsten Drogen des „Homöopatischen Arzneibuches" von Wilhelm Schwabe, ferner Drogenbestimmungsschlüssel, die bei Erkennung der Drogen in Teegemischen usw. gute Dienste leisten dürften. Die Einteilung der Drogen erfolgt in drei Hauptgruppen: Thallophyten, Pteridophyten und Samenpflanzen. Letztere ist nach morphologischen Gesichtspunkten unterteilt.

Bei der Drogenbeschreibung wird zunächst ein kurzer Überblick über Abstammung, Kultur und Geschichte der Droge gegeben, dann folgen morphologische und anatomische Daten, sowie Angaben über Merkmale des Drogenpulvers. Zahlreiche und z. T. farbig wiedergegebene Abbildungen beleben den Text und werden in bedeutendem Maße zur Erleichterung der Drogenbestimmung beitragen. So ist in zahlreichen Fällen nicht nur die Ganzdroge und ihre Anatomie dargestellt, sondern auch das mikroskopische Bild des Drogenpulvers. Die Drogenbestandteile und ihre Anwendungsgebiete werden nur in kurzen Zusammenfassungen erwähnt. Zum Schluß folgen Verzeichnisse der Drogen liefernden Pflanzen nach dem Englerschen System, ferner eine Einteilung nach den wirksamen Inhaltsstoffen sowie nach pharmakologischen Gesichtspunkten.

Durch seine übersichtliche und umfangreiche Darstellung der Drogen ist das Buch von den Verff. in die Spitzengruppe der pharmakognostischen Lehrbücher einzureihen. Bärner (Berlin-Dahlem).

Müller, K., 16. Jahresbericht des Badischen Weinbauinstituts in Freiburg i. Br. für das Jahr 1936. Selbstverlag des Instituts. 74 S.

Der Bericht enthält auch mehrere Kapitel über Schädlinge, Krankheiten und über ihre Bekämpfung. Reben-Peronospora trat wieder einmal sehr

stark auf und richtete als Lederbeerenkrankheit fühlbare Schäden an, ebenso der Rebenmehltau (Uncinula necator). Schädlingsbekämpfungsmittel wurden im Vor- und Hauptversuch je 20 geprüft. Weitere, zusammen mit Dr. Müller-Stoll angestellte Versuche über die Reisigkrankheit der Reben wurden durchgeführt. Um den Einfluß der R. auf den Ertrag zu prüfen, wurden Pfropfreben, die einerseits eine reisigkranke Unterlage, andererseits ein reisigkrankes Edelreis besitzen, weinbergmäßig ausgepflanzt. Die Jungreben zeigten keine nennenswerten Unterschiede zwischen kranken und gesunden Reben. Pfröpflinge mit kranker Unterlage und gesundem Edelreis zeigten sehr wenig sog. Stäbchen in den Zellen. Wird reisigkrankes Holz auf gesunde Unterlage gepfropft, dann ist deutliche Abnahme des Stäbchenbefalls festzustellen. Die Anpflanzung von stark stäbchenkranken Pfropfreben in ausgeruhten Boden hat also die Stäbchenzahl in den Rebruten stark herabgesetzt. Durch eine quantitative Zählmethode gelang der Nachweis, daß die Zahl der Stäbchen auf den Quadratzentimeter Querschnittsfläche von der Basis der Ruten nach der Spitze hin ganz erheblich abnimmt. Die meisten Stäbchen finden sich in den untersten Internodien.

Die Reblausverseuchung in Baden schreitet weiter vorwärts. In 74 Gemarkungen wurden 170 Reblausherde festgestellt. 30 Gemeinden sind neu verseucht. Die Reblauslage in Baden ist charakterisiert durch das Auftreten der Blattgallenreblaus, die von Basel bis Heidelberg nun schon weit verbreitet ist. Eine beschleunigte Entfernung der Hybridenreben, als hauptsächliche Träger der Blattreblaus, und weite Umstellung des badischen Weinbaues auf reblausfeste Unterlagen ist die notwendige Abwehrmaßnahme.

In der Hefereinzucht wurden zwei neugezüchtete Heferassen „Ihringer Winklerberg“ und eine Kaltgärhefe an die Praxis abgegeben. — Über den weinbaulichen Inhalt des Jahresberichtes kann hier nicht referiert werden.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Allgemeines und Methodisches.

Thiele, H. und **Graf, W.**, Die Zweischichtenplatte — eine neuartige Methode für bakteriologische Arbeiten. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 118. 1937. S. 88—96.)

Die Zweischichtenplatte besteht aus 2 in der Kulturschale übereinandergegossenen Schichten eines erstarrungsfähigen Nährbodens. Durch geeignete Wahl der unteren Schicht ist auf diese Weise z. B. ein Mittel gefunden, das zum Abfangen von bakteriellen Stoffwechselprodukten geeignet ist. Da die Zweischichtenplatte im Verlauf von einigen Stunden ihre Struktur ändert (es diffundieren die Stoffe aus der unteren Schicht in die obere), ist sie bald nach dem Gießen zu beimpfen. Häufig ist es von Vorteil, zwischen beide Schichten eine Membran (Cellophan, Pergament, Kollodium usw.) zu bringen, wodurch man die Durchlässigkeit für verschiedene Stoffe nach Belieben wählen kann. Verwendet man z. B. Membranen mit elektropositiver Ladung, so ist die Durchlässigkeit für saure Stoffe oder Anionen größer, verwendet man solche von negativer Ladung, ist sie größer für basische Stoffe und Kationen.

Die Zweischichtenplatte ist auch für eine Reihe anderer Zwecke geeignet, beispielsweise für Variabilitätsuntersuchungen und zur Prüfung von Desinfektionsmitteln. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Berczeller, A., Vollfleischwasser-Nährböden. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 16. 1937. S. 754—755.)

Fleischwasser bietet auch ohne besondere Zusätze sehr anspruchsvollen Keimen beste Wachstumsmöglichkeit, wenn die thermolabilen Bestandteile erhalten bleiben. Verf. empfiehlt folgendes Vorgehen: Etwa 100 g mageres feingeschnittenes Fleisch werden nach Zusatz von 200 ccm Leitungswasser 24 Std. stehen gelassen. Das Wasser und der Fleischsaft werden hierauf ½ Std. im Wasserbad bei 60° erhitzt, mit Natronlauge neutralisiert (gegen Lackmus) und filtriert (zuerst durch Papier, dann durch ein Bakterienfilter). Die erhaltene weinrote Flüssigkeit setzt man im Verhältnis 1 : 1 der Martinbouillon oder im Verhältnis 1 : 3 verflüssigtem und auf 50° abgekühlten Martin-Bouillon-Agar zu. Die Erhitzung des Fleischwassers auf 60° kann auch unterbleiben, nur ergibt sich in diesem Falle ein leicht getrübter Nährboden. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Stutz, L., Über die Verwendungsmöglichkeiten des Cellophans in der Bakteriologie. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 139. 1937. S. 110—112.)

Statt der üblichen Verschlüsse für Kulturgefäße, deren Inhalt vor Verdunstung geschützt werden soll, wird die Verwendung eines Cellophan-Vaselinverschlusses empfohlen. Die beste Haftfähigkeit des Cellophans wurde dadurch erreicht, daß vor der Sterilisation desselben (im Dampf bei 120°) zwischen die einzelnen zurechtgeschnittenen Blättchen Stückchen von Fließpapier gelegt und diese mit Leitungswasser angefeuchtet wurden (ohne daß überschüssiges Wasser vorhanden). Das Blättchen wird aus der Schale mit Pinzette entnommen und, falls zu naß, einige Male durch die Flamme gezogen. Der abgeglühte Rand des Röhrchens muß vor dem Aufziehen des Cellophans genügend abgekühlt sein.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Thiele, H., Ein neuer Halter für Impfnadeln. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 117. 1937. S. 297—298.)

An Stelle der früher verwendeten Klemmutter tritt eine völlig glatte Metallhülse, die den Stiel des Halters bis zum isolierten Handgriff schützend umfaßt. Die Klemmbacken sind in Wegfall gekommen. Die Impfnadel wird durch einen innen liegenden Druckstab festgehalten.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Engelhard, C., Bakterienfilter für biologische Arbeiten. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 60. 1937. S. 45—46.)

Zur Prüfung der von Schott-Jena als Bakterienfilter hergestellten Glasfilternutschen mit Filterplatten stellte Verf. Versuche mit zwei Filtern mit Filterplatte „G 5 auf 3" an. Die eine Filternutsche von Form 17 besaß für 50 ccm Wasser eine Filtergeschwindigkeit von 3 Min. 30 Sek., bei einem Durchmesser der größten Pore von 0,76 μ und einem mittleren Porendurchmesser von 0,651 μ. Die andere Nutsche von Form 25 hatte eine Filtergeschwindigkeit für 500 ccm Wasser von 27 Min., einen maximalen Porendurchmesser von 0,91 μ und einen mittleren Porendurchmesser von 0,684 μ. Als Versuchsmaterial diente neben einer Aufschwemmung von Bierhefe in Wasser ein durch Bakterien stark getrübtes Bier.

Von den Filtraten wurden Fleischsaftgelatineplatten gegossen, Wachstum trat nicht ein, womit bewiesen war, daß die untersuchten Filternutschen Hefen und Bakterien beim Absaugen restlos zurückgehalten hatten. Die Sterilisierung der Glasfilternutschen kann sowohl trocken als auch mit Wasserdampf erfolgen. Zur Reinigung darf keine Bichromatschwefelsäure

verwendet werden. Man gießt am besten 80° warme konz. Schwefelsäure auf die Filterplatte, der etwas Kalisalpeter oder ein Gemisch von Natronsalpeter und Natriumperchlorat zugesetzt wird, läßt über Nacht stehen, saugt ab und wäscht unter Vakuum mit destilliertem Wasser nach.

Die gleiche Leistung wird von allen Filternutschen mit einer maximalen Porenweite bis zu 1,5 μ erreicht, zur Zurückhaltung von Hefe allein genügen die gröbsten Filterplatten der Art G 5/3 mit einer maximalen Porenweite von 1,5—2,7 μ. Heuß (Berlin).

Schweizer, G., Die Kaltsterilisation von Nährböden. (Österr. bot. Ztschr. Bd. 85. 1936. S. 297—302.)

In Anbetracht der bestehenden Schwierigkeiten bei der Herstellung geeigneter steriler Nährböden für viele Mikroben hat Verf. versucht, ein besonderes Sterilisationsverfahren auszuarbeiten, das nach einem ganz anderen Prinzip arbeitend, das Nährmedium unter möglichst großer Schonung steril machen soll. Während die bisher übliche Methode den Heißdampf benutzte, kommen bei dem neuen Verfahren bakterizid, bzw. fungizid wirkende Chemikalien kalt zur Anwendung. Die Kulturgefäße werden mit dem Nährboden in ein Glasgefäß gebracht, das luftleer gepumpt werden kann. In das Vakuum läßt man dann die benötigte Menge Sterilisationsflüssigkeit einziehen und den Kulturboden ½—1 Tag unter der Einwirkung der Dämpfe. Als sterilisierendes Medium nimmt Verf. sehr verschiedene Stoffe, wie Alkohole, Äther, Chloroform, NH_3, CCl_4 u. a. nebst Mischungen aus diesen. Ihre Anwendung richtet sich ganz nach der Natur des Nährbodens und seinem Verwendungszweck. Als Beweis für die Brauchbarkeit seines Verfahrens führt Verf. von ihm durchgeführte Kulturversuche schwierig bzw. bislang gar nicht möglich gewesener Züchtungen an: Tuberkelbazillen auf kalt sterilisierter Rinderlunge, Rhytisma acerinum, Empusa muscae u. a. Schließlich wird noch auf die Bedeutung dieses Verfahrens für die Züchtung von Parasiten im Dienste des Menschen und die sterile Kultur grüner Pflanzen hingewiesen. Skallau (Berlin).

Lazarew, N. und Bersenewa, B., Die kriothermische Sterilisation. (Arb. d. Inst. f. landwirtschaftl. Mikrobiol. Bd. 6. Folge 1. 1935. S. 58—71.) [Russisch.]

Verff. untersuchten die Wirkung niedriger Temperatur auf Mikroben. Diese wurden einer Temperatur von —190° C abwechselnd mit Auftauen („kriothermische Sterilisation") im Laufe von 30 Tagen ausgesetzt, wonach sich ergab, daß dadurch nur sporenlose Formen vernichtet werden, während die sporenbildenden weiterleben. Bact. vulgare starb nach 5—30 Wiederholungen des Gefrierens und Auftauens ab, die Sporen des Bac. mesentericus hielten dagegen bis 50 derartige Wiederholungen aus. Die Bakterien starben aber restlos ab, wenn zwischen den Gefrierwiederholungen die Kulturen im Laufe von 12 Std. bis aus + 24° C erwärmt wurden. Im weiteren werden die Versuchsergebnisse mit „kriothermischer Sterilisation" des Bodens (Humushorizont des Podsolbodens) angeführt. Die in einen sterilen Boden eingebrachte Kultur von Bact. vulgare wurde nach 5—10 Wiederholungen der „kriothermischen Sterilisation" durch diese vollständig vernichtet. Bei Sterilisation des mit Wasser befeuchteten Bodens wurde anfänglich eine starke Abnahme der Mikrobenzahl festgestellt, bei weiteren Wiederholungen der Sterilisation wurde dies aber nicht mehr beob-

achtet. Bei der vorhergehenden Einbringung in den Versuchsboden eines Nährbodens wurde eine fast völlige Sterilisation des Bodens erreicht. Unter den natürlichen Verhältnissen findet im Boden eine „kriothermische Sterilisation" bei Frühlings- und Herbstfrösten statt, durch welche die Änderungen der Zusammensetzung der Mikroflora und der Verlauf der biochemischen Prozesse im Boden bedingt werden. M. Gordienko (Berlin).

Peragallo, I., Experimentelle Untersuchungen über die zur keimfreien Filtration dienenden Filterkerzen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 465—471.)

Untersuchungen über die innere Struktur der Haupttypen von Filterkerzen führten zu folgenden Forderungen, die an ein Filter gestellt werden müssen: Die Poren dürfen im äußersten Falle einen Durchmesser von 28 × 28 μ aufweisen, nach Möglichkeit sollten sie nicht über 20 × 20 μ groß sein (die Bakterien werden durch Absorption an den Wänden der Porenkanäle zurückgehalten), ihre Form soll möglichst rund sein und ihre Zahl in der Oberflächeneinheit (Okular Nr. 3, Objektiv 12 × 15 m 0,30 Koristka) 15—20—30, auf keinen Fall aber 60 übersteigen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hagemann, P., Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis von Leprabakterien im Nasenschleim und im Blut. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 63. 1937. S. 514—518.)

Es wird ein neues Verfahren zur Darstellung von Mikroben und seine Anwendung in einem besonderen Falle (zum Nachweis der Lepra-Erreger) erstmalig bekanntgegeben. Diese neue, sog. fluoreszenzmikroskopische Methode besteht darin, daß die Mikroben mit Lösungen fluoreszierender Stoffe, sog. Fluorochromen, in einer dem gewöhnlichen Färbeverfahren ähnlichen Weise „angefärbt" und dann im Fluoreszenzmikroskop durch die bei Belichtung mit Ultraviolettstrahlen auftretende Fluoreszenz sichtbar gemacht werden. Die Bakterien erscheinen dabei je nach dem angewandten Fluorochrom leuchtend gelb, blau oder andersfarbig auf mehr oder weniger dunklem bis violettem oder nur schwach aufgehelltem Untergrund. Daraus ergeben sich folgende 2 Vorteile: 1. die Wiedergabe der Bakterien ist überaus kontrastreich; 2. auch bei langem Mikroskopieren tritt keine Ermüdung ein wie bei hell leuchtendem Sehfeld. Aus diesen Gründen sind selbst nur spärlich vorkommende Bakterien in manchen direkten Präparaten viel leichter und rascher auffindbar als bei gewöhnlicher Hellfeld-Untersuchung.

Einem allgemeinen Überblick über das Wesen der Fluoreszenz folgt die Beschreibung des erforderlichen Lumineszenzgerätes.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hagemann, K. H., Virus-Fluoreszenzmikroskopie. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 84. 1937. S. 761—765.)

Die vom Verf. zur Sichtbarmachung von Mikroben ausgearbeitete sog. Fluoreszenzmikroskopie hat sich auch als vorzüglich geeignet erwiesen zur Darstellung von ultravisiblem Virus. Die Viruskörperchen werden mit einem fluoreszierenden Stoff, dem Fluorochrom (z. B. mit wässerigem, phenolhaltigen Primulin 1 : 1000, 15 Sek. Einwirkungsdauer), angefärbt und dann im Mikroskop durch Ultraviolettstrahlen fluoreszierend, leuchtend sichtbar gemacht. Diese neue Virusdarstellung ist allen bisherigen Verfahren, insbesondere der Beobachtung im Ultramikroskop, weit überlegen. Während in diesem sämtliche im Gesichtsfeld vorhandenen Teilchen Beugungsbilder geben,

wird im fluoreszenzgefärbten Viruspräparat nur ein gewisser Teil sichtbar gemacht, nämlich die Zellen, Leukozytengranula usw., die eine Affinität zu dem angewandten Fluorochrom besitzen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Gottsacker, E., Beitrag zur Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 139. 1937. S. 70—82.)

Nach einer kritischen Besprechung der üblichen Untersuchungsmethoden von Desinfektionsmitteln, auf Grund deren Verf. für die Suspensionsmethode eintritt, werden zur einheitlichen Durchführung dieser Methode Vorschläge gemacht hinsichtlich des Nährbodens, der Vor- und Nachkultur (Vorkultur auf 2,5proz. Schrägagar, Nachkultur in Fleischwasserbouillon, p_H der Nährböden 7,4—7,6), der Verdünnung des Desinfiziens, der Temperatur (die stets gleich gewählt werden muß, auf keinen Fall Versuche bei „Zimmertemperatur" durchführen), der Versuchsdauer („Normalzeit" 2,5 Min.) und der Art der Testkeime (Bact. coli, pyocyaneum, Staphylokokken). An Stelle von Reagenzröhrchen wird die Verwendung von 50-ccm-Erlenmeyerkölbchen empfohlen, um das Abstreichen von Bakterien an der Wand der Versuchsgefäße oberhalb der Desinfektionslösung zu vermeiden.

Es erscheint angebracht, den Phenolkoeffizienten beizubehalten, da Karbolsäure ein chemisch eindeutig definierter Körper ist, der infolgedessen stets die gleiche desinfektorische Wirkung entfaltet. Es wird unterschieden zwischen einem mittleren Gesamtkoeffizienten, ermittelt an einer Reihe von Testkeimen, und einem mittleren Übersichtskoeffizienten, ermittelt an Bact. coli, pyocyaneum und Staphylokokken.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Murao, K. und Morimoto, T., Über die Herstellung von Immunogenen durch Elektrobakteriolyse. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 137. 1936. S. 206—209.)

Wird durch Bakterienaufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung elektrischer Strom hindurchgeleitet, so tritt Bakteriolyse ein, und zwar bei den meisten Bakterienarten in weniger als 1 Min. Diese Beobachtung wurde für die Herstellung von Impfstoffen praktisch ausgewertet. Die auf diese Weise gewonnenen sog. Elektrogene übten eine erhebliche Schutzwirkung aus, führten aber im Tier nicht zur Bildung von spezifischen Agglutininen und Präzipitinen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Lockemann, G. und Ulrich, W., Über das Keimtötungsvermögen der komplexen Silberverbindung eines Oxybenzylidenderivates. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 63. 1937. S. 860—862.)

Die komplexe Silberverbindung des Oxybenzylidenderivates „S. O. B." erwies sich in längerer Versuchsdauer (24 Std.) bei 37° gegenüber den geprüften Bakterienarten (Coli-, Typhus-, Ruhrbakterien, Staphylokokken) in wässeriger Aufschwemmung sehr wirksam. Die Wirkung beruht offenbar auf der Abgabe freier Silberionen aus dem nicht dissoziierten Molekularkomplex, wobei Temperaturerhöhung fördernd wirkt. Die Verwendung des Präparates ist besonders in solchen Fällen angebracht, in denen eine Verwendung von elektrolytisch gelöstem Silber (wie Argentum nitricum) wegen dessen fällender Wirkung auf physiologische Flüssigkeiten unmöglich ist.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Roberg, M., Umwandlung von assimiliertem Luftstickstoff. (Forschungsdienst. Bd. 2. 1936. S. 23—26.)

Nach den Erfahrungen der letzten Jahre ist die Zufuhr von N durch die Tätigkeit der N-bindenden Bakterien immerhin von einiger praktischer Bedeutung. Die Bakterienzelle baut den N in ihr Eiweiß ein. Die höheren Pflanzen können auf zweifache Weise aus der N-Anreicherung ihren Nutzen ziehen. Einmal geben die lebenden Zellen durch Diffusion wahrscheinlich, lösliche N-Verbindungen nach außen ab, dann werden durch autolytische Vorgänge die Eiweiße in eine von der höheren Pflanze assimilierbare Form gebracht. Nach einem vom Verf. aufgestellten Schema wird Azotobakter teils von Protozoen resorbiert, seine toten Zellen von Fäulnisbakterien. Der Hauptanteil wird dann, wie auch die ins umgebende Medium diffundierenden N-Verbindungen, auf irgendeinem Wege ammonifiziert, die NH_3-freien Verbindungen werden von Pilzen und Bakterien aufgenommen. Nach deren Absterben tritt auch hier Ammonifikation ein, das gesamte NH_3 kann dann von der höheren Pflanze aufgenommen werden, oder es wird über NO_2 zu NO_3 bakteriell oxydiert. Verf. ist der Ansicht, daß sein Schema über die Umwandlungen des N, das er an Hand der Untersuchungen mit Azotobakter aufstellte, auch für andere N-Binder gültig sei. Skallau (Berlin).

Roberg, M., Die Bindung des Luftstickstoffs durch freilebende Mikroorganismen. (Forschungsdienst. Bd. 2. 1937. S. 258—261.)

Aus der kurzen literarischen Studie ergibt sich, daß eine N-Bindung einwandfrei nur bei wenigen Organismen nachgewiesen ist. Von den hier betrachteten freilebenden Mikroben kommen in Frage: Azotobakter, Amylobakter, vielleicht noch Bacillus asterosporus und Bact. tumefaciens. Nach wie vor ungeklärt ist der Mechanismus der N-Bindung. Stickstoffprototrophie bei Actinomyzeten und Cyanophyceen ist noch unsicher, hingegen für Chlorophyceen als nicht vorhanden erwiesen. Bei höheren Pilzen, wie Aspergillus z. B., kann die Frage der N-Bindung negativ beantwortet werden. Unklar ist auch noch ein evtl. N-Gewinn durch Mykorrhizen. Skallau (Berlin).

Schwartz, W., Fettsynthese durch Pilze und Bakterien. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1937. S. 294—296.)

Verf. gibt eine Übersicht über den Stand unserer Kenntnisse auf dem Gebiet der Fettsynthese durch Pilze und Bakterien, die allerdings noch nicht sehr tiefgehend sind. Für das Problem einer technischen Fettsynthese kommt es vor allem auf die richtige Auswahl eines geeigneten Fettbildners an, der bei experimenteller Beherrschung der Zusammenhänge zwischen Kulturbedingungen und Fettsynthese eine hohe, reproduzierbare Ausbeute ergibt. Was sich hier erreichen läßt, zeigt auf einem anderen Gebiet die Steigerung der Zitronensäureausbeute durch Aspergillus niger von etwa 45 auf 70%. Heuß (Berlin).

Fink, H., Haeseler, G. v. und Schmidt, M., Zur Frage der Fettgewinnung mit Hilfe von Mikroorganismen. Über das Fettbildungsvermögen verschiedener Stämme von Oidium lactis (Oospora lactis). (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 54. 1937. S. 89—93, 100—104.)

Es wurden etwa 50 Stämme von Oidium lactis auf Fettbildung untersucht. Von 10 Stämmen mit großem Fettanreicherungsvermögen wurden 2, die sich gleichzeitig durch Vermehrungsfreudigkeit auszeichneten, für weitere Versuche ausgewählt. Der eine wächst am besten bei etwa 4% Zuckergehalt der Nährlösung, der andere bei 6%. Die günstigste Temperatur war bei beiden 25—30° C. Der erste Stamm war im Wachstum gleichmäßiger und gegen hohere Temperaturen weniger empfindlich. Bei Bedingungen, bei denen die höchsten Myzelausbeuten erzielt werden, ist der Stickstoff- bzw. Eiweißgehalt in der Trockensubstanz am niedrigsten, der Fettgehalt am höchsten. Die Ausbeuten an Trockensubstanz und Fett bei der Kultivierung in flachen Schalen ist sowohl je Zuckereinheit als je Quadratmeter und Tag günstiger als bei anderen bekannten Fettbildnern, beispielsweise Endomyces vernalis Ludwig. Ein großer Vorteil gegenüber diesen ist die Unempfindlichkeit gegenüber Infektionen. Als Nährlösung wurden in erster Linie Molken benutzt. Als Stickstoffquelle erwies sich neben Harnstoff Ammonsulfat besonders günstig. Bei dem Fett dieser typischen Fettbildner handelt es sich nicht um Degenerationsfett, sondern um einen ausgesprochenen Reservestoff. Die Frage der technischen Nutzbarmachung der Oidiumzüchtungen für die Fettgewinnung muß noch geprüft werden.

Heuß (Berlin).

Holst, E. C., Zygosaccharomyces pini, a new species of yeast associated with bark beetles in pines. (Journ. Agricult. Research. Vol. 53. 1936. p. 513—518.)

Verf. entdeckte eine Hefe, die gewöhnlich mit den Borkenkäfern Dendroctonus brevicomis, D. frontalis, D. valens, Ips oregoni, I. emarginatus, I. avulsus, I. grandicollis und I. calligraphus vergesellschaftet ist. Ein genaues Studium der Hefe ergab, daß sie zur Gattung Zygosaccharomyces gehört, da der Askosporenbildung ein Sexualvorgang vorausgeht. Die Bildung von „hutförmigen" (hat-shaped) Askosporen sowie die Tatsache, daß von den gewöhnlichen Zuckern nur Glukose, Fruktose und Mannose vergoren wird, veranlaßte Verf., diese Hefe als neue Art zu betrachten und den Namen Zygosaccharomyces pini n. sp. vorzuschlagen. Die morphologischen und physiologischen Eigenschaften des Organismus werden genau beschrieben.

Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Dickson, H., Observations on Inheritance in Coprinus macrorhizus (Pers.) Rea. (Ann. Bot. Vol. 50. 1936. p. 719—733.)

Bei der Bestrahlung haploider Stämme desselben Geschlechts von Coprinus macrorhizus mit Röntgenstrahlen trat ein besonderer Typ von Saltanten auf, der vom Verf. mit den elterlichen und normalen Stämmen gepaart wurde. Die Wirkung der Bestrahlung ist nur vorübergehend, Kernübertritte von einem Myzel zum anderen sind nicht beobachtet worden. Die Nachkömmlinge der Kreuzungen zwischen normalen und mutanten Stämmen zeigten ähnliches Verhalten wie bei C. sphaerosporus. Bei der Sporulierung spielen die Kerne der Haplonten die Hauptrolle. Legitime und illegitime Verbindungen im Sinne Bullers benötigten die gleiche Zeit, im ersten Fall handelt es sich wohl um Nuklealchimären, im zweiten sind daneben noch ein haploider und ein diploider Kernsatz vorhanden.

Skallau (Berlin).

Lohwag, H., Ein Ascomycet mit gametophytischem und sporophytischem Myzel. (Österr. bot. Ztschr. Bd. 85. 1936. S. 135—139.)

Verf. sieht in dem von Emmons beschriebenen Pilz Penicillium stipitatum Thom. das phylogenetische Bindeglied zwischen Askomyzeten und Basidiomyzeten. Bei dieser Form entwickelt sich das Perithezium durch mehrere Hyphenzellen vom Archikarp getrennt von den Sexualorganen. Zwei gametophytische Sexualäste umschlingen sich, der Vereinigung entspringt das mehrzellige sporophytische Myzel, hieraus entsteht dann erst das Askokarp. Bis zur Ausbildung des Sexualapparates liegen die Verhältnisse bei Aspergillus herbariorum ebenso, das Perithezium geht jedoch hier direkt aus der Vereinigung beider hervor. Zieht man andere Penicillium-Arten heran (P. Wortmanni oder vermiculatum), so kann man feststellen, daß bei der Gattung Penicillium die Sexualorgane schon reduziert sind, sie werden dem vegetativen Haplomyzel ähnlich, die Reduktion greift auch auf das Askogon über, dessen Kernzahl 1 wird. Damit ist der haploide Zustand der Basidiomyzeten erreicht.

Skallau (Berlin).

Lojkin, M., Inactivation of tobacco mosaic virus by ascorbic acid. (Contr. Boyce Thomps. Inst. Vol. 8. 1936. p. 335.)

Reduzierte Ascorbinsäure kann noch in einer Konzentration von 0,03 mg/ccm reine Auszüge des Tabak-Mosaik-Virus inaktivieren. Dieser Vorgang findet jedoch nur statt, wenn die A. im virushaltigen Medium durch atmosphärischen Sauerstoff oxydiert wird. Es sind die gleichen Ursachen, welche eine Autoxydation der A. hemmen wie auch die Inaktivierung hindern, Cu stimuliert beide Vorgänge. Das Virus bleibt aktiv bei der Oxydation der A. durch J, 2,6-Dichlorophenolindiphenol und $KMnO_4$. Im natürlichen Pflanzensaft tritt die Inaktivierung nicht so schnell ein, wie im gereinigten Auszug. Gesunde und viruskranke Tomaten führen unter gleichen Wachstumsbedingungen gleichen Gehalt an C-Vitamin. Skallau (Berlin).

Mikrobiologie des Düngers Bodens, Wassers und Abwassers.

Rippel, A., Allgemeine Grundlagen der mikrobiologischen Bodenuntersuchung (Bestimmung der Zahl). (Forschungsdienst. Bd. 1. 1936. S. 28—33.)

Die Ermittlung der Keimzahl eines Bodens ist immer noch mit großen Schwierigkeiten verknüpft. Die alte Kochsche Methode der Plattenkultur besitzt mancherlei Nachteile, deren größter die ausschließliche Begünstigung der schnell wachsenden Formen ist, während Aktinomyzeten, Zellulosezersetzer, Nitrosomonas, Nitrobakter u. a. autrotophe Arten, auch Anaerobier, sich nur schwach oder gar nicht entwickeln. Auch die direkte mikroskopische Untersuchung des Bodens nach Conn ist zweifelhaft, da es durchaus nicht feststeht, daß nur lebende Organismen das Erythrosin-Karbol oder andere Farbstoffe annehmen. Außerdem besteht eine Abhängigkeit von der Bodenart. Die Identifizierung ist schwierig, es sei an die „autochthone Flora" von Winogradsky erinnert. Interessant sind in diesem Zusammenhang die physiologischen Untersuchungen an Bact. globiforme durch Conn. Kubiena arbeitete 1932 eine Methode aus, die die Beobachtung lebender Pilze gestattet. Er fand mit ihr z. B., daß Mucorineen vorzugsweise in den Hohlräumen des Bodens fruchten, die nicht mit der Außenluft in Verbindung stehen. Besondere Bedeutung mißt Verf. der Boden-Aufwuchsplatten-Methode von Cholodny bei. Die Objektträger zeigen nach der Präparation die Mikrobionten in situ. Diese Methode ist vieler Abwandlungen fähig (Demeter, Rippel, R. Meyer). Weitere Fortschritte wurden

durch die Bodenkammermethode erzielt. Koffmann arbeitet mit einer Bodenaufschlämmung, so daß die Mikroflora und -fauna nicht mehr als natürliche Lebensgemeinschaft vorliegt. Die Verdünnungsmethode stellt wie viele neuere ausgearbeitete Methoden schon einen Sonderfall dar. Fehér hat sie in physiologischer wie physikochemischer Hinsicht vervollkommnet. Hiernach ist die Konstanz des p_H-Wertes in dem Boden mit einer bestimmten Verdünnung gleichzeitig die Grenze der Entwicklung der Mikroben.

Skallau (Berlin).

Bortels, H., Über die Wirkung von Molybdän- und Vanadiumdüngungen auf Azotobacterzahl und Stickstoffbindung in Erde. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 1—12.)

Mit Hilfe der Erdplattenmethode von Winogradsky konnte gezeigt werden, daß Zusatz von Molybdän und Vanadium zu lehmig-sandigen Ackerböden sowohl die Azotobakter-Zahl erhöht wie auch den Durchmesser der einzelnen Kolonien und die Stickstoffbindung des Bodens. Auch Komposterde zeigte deutlichen Molybdänmangel. Ferner konnte festgestellt werden, daß Mo- und V-Düngung in einem Falle den Humusgehalt des Bodens deutlich erhöhte. Einer Düngung mit diesen beiden Elementen, gegebenenfalls auch mit Wolfram, ist künftig Beachtung zu schenken.

Rippel (Göttingen).

Daenell, M. C. and Eisenmenge, W. S., Oxidation-reduction potentials of soil suspensions in relation to acidity and nitrification. (Journ. of Agric. Research. Vol. 53. 1936. p. 72—80.)

Die im Gewächshaus zur Feststellung der Beziehung des Redox-Potentials zur Nitrifikation und Azidität mit verschiedenen Bodenarten angestellten Versuche führten zu folgendem Ergebnis: Eine Änderung der Nitrifikation bewirkte eine Verschiebung des p_H-Wertes, die sekundär eine Änderung des Redox-Potentials zur Folge hatte. Die von Herzner, Willis und Heintze unabhängig voneinander gemachten Beobachtungen, daß das Redox-Potential eine direkte Funktion der Azidität ist, wurde bestätigt. Zusätze von Ammoniumsulfat oder Natriumnitrat zu den Böden vermochten keinen gleichmäßigen Einfluß auf das Redox-Potential der Bodensuspensionen auszuüben. Die schnelle Zersetzung organischer Substanzen bewirkte einen deutlichen Abfall des Potentials, der auf Erschöpfung des Sauerstoffs zurückgeführt wird. Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Colbeck, J. C., Über das Vorkommen der Spirochaeta pseudoicterogenes (Uhlenhut und Zülzer) in Erdproben. (Ztschr. f. Immunitätsforschg. u. exper. Therapie. Bd. 87. 1936. S. 213—214.)

Die Spirochaeta pseudoicterogenes wurde 8 mal bei Untersuchung von 40 Erdproben gefunden (Methode nach Vagedes).

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Fehér, D. und Frank, M., Vergleichende Untersuchungen über den biologischen Aktivitätsgrad der Böden. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 27—40.)

Eine genauere Nachprüfung der schon früher angegebenen Methode, wobei als biologischer Aktivitätsgrad des Bodens der Grenzwert verstanden wird, bei dem noch die Verdünnung einer Bodenaufschwemmung, in den gleichen sterilisierten Boden eingeimpft, eine nachweisbare Veränderung des

Bodens hervorruft; als Maßstab dient der p_H-Wert. Die Grenze wird bei dieser Methode weiter hinausgeschoben als bei der Plattenzählung, wie die Versuche zeigen. Zwischen R-Wert des Bodens (Temperatur × Feuchtigkeit) und Mikroorganismenleben besteht unmittelbare Beziehung.

Es werden noch Vorschläge zur Ermittlung der maximalen biologischen Leistungsfähigkeit des Bodens gemacht. Rippel (Göttingen).

Rippel, A., Neuere mikrobiologische Beobachtungen zur Humusbildung und Humuszersetzung. (Forschungsdienst. Bd. 2. 1936. S. 83—88.)

Verf. widerlegt die einzelnen Angaben von Zolcinsky, nach dessen Ansicht die Humusbildung nur ein physikalischer bzw. chemischer Vorgang sei, aber kein biologischer (bakterieller). Die Bildung sowohl wie die Zersetzung des Humus ist in hohem Maße von der Tätigkeit der Mikroorganismen abhängig. Eine Bildung kann auf dem Wege der Umwandlung organischer Stoffe in solche von humösem Charakter vor sich gehen, sie kann aber auch aus der Zersetzung der Leibessubstanz der Mikroben hervorgehen. Für den ersten Fall kommen z. B. Gerbstoffe in Betracht, die Eiweiße fällen, wobei die hier entstehenden Additionsprodukte durch die Mikroorganismen zu braunen Stoffen oxydiert werden. Im zweiten Falle wird zunächst der leicht zugängliche C angegriffen, dann setzt Autolyse ein, es entstehen wiederum humusähnliche Verbindungen, die einem erneuten Angriff durch Bakterien und Pilze sich sehr widerstandsfähig zeigen. Die Form des N, N-haltige Farbstoffe der Mikroben, die nicht zur Photosynthese benötigt werden, N-freie zyklische Pilzfarbstoffe, Zellulose, Lignin sind sicher für die Humusbildung maßgebend. Lignin kann ebenfalls mit Eiweiß Stoffe von humusähnlichem Charakter liefern, die bei niedrigem Eiweißgehalt von Bakterien kaum angegriffen werden. Weiter kommen aromatische Verbindungen, Uron- und Polyuronsäuren für eine Humusbildung in Frage. — An der Zersetzung des Humus sind sporulierende, Eiweiß zersetzende Erdbakterien nicht beteiligt. Im Gegensatz zu der zymogenen, humusbildenden Mikroflora im Sinne Winogradskys kommen hier die Autochthonen zur Geltung, wohin z. B. Bact. globiforme gehört. Auf jungfräulichen Böden findet man Aktinomyzeten und Mykobakterien stark vertreten. Pilze scheinen die Bahnbrecher für die Zersetzung zu sein, sie dringen zuerst in unbesiedelte Bodenhohlräume ein; aromatische Verbindungen greifen sie besonders gut an. Zum Schluß erwähnt Verf. die Mykorrhizen, die als N- und P-Sammler organische Stoffe, wie Humus, verarbeiten und sie der höheren Pflanze zugänglich machen. Skallau (Berlin).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Klinkowski, M., Die Luzerne als Objekt der Pflanzenpathologie. (Forschungsdienst. Bd. 2. 1936. S. 457—474.)

Es werden die wichtigsten tierischen, pilzlichen und bakteriellen Schädlinge der Luzerne besprochen, daneben noch einige Krankheitsformen anderer Ursachen. Für deutsche Gebiete können sehr gefährlich werden: Otiorrhynchus ligustici, der als Larve durch Wurzelfraß den ganzen Anbau vernichtet; Macrosiphum pisi durch Massenauftreten in günstigen Jahren; unter den Gallmücken Contarinia medicaginis; Lygus nur bei massenhaftem Auftreten; schließlich Bruchophagus gibbus als Samenschädling. Unter den Pilzen wären zu nennen: Pseu-

dopeziza medicaginis, Peronospora aestivalis und Erysiphe pisi, der bei starkem Befall einjähriger Bestände diese vernichten kann. Andere Pilze, wie Uromyces striatus, sind seltener. Bakterielle Schädigungen sind glücklicherweise bei uns nicht beobachtet worden. Dagegen kommen Kälteschäden häufiger vor, Virusübertragung durch Blattläuse ist kürzlich nachgewiesen worden. Der Arbeit ist noch die sehr reichhaltige Literatur der letzten 6 Jahre beigegeben.

Skallau (Berlin).

Hassebrauk, K., Die Ergebnisse der Getreiderostforschung der letzten 10 Jahre. (1. Teil: Forschungsdienst. Bd. 2. 1936. S. 503—517; 2. Teil: l. c. S. 568—581.)

Das Studium der verschiedenen Getreideroste wird durch das Auftreten vieler physiologischer Rassen ungemein erschwert. Puccinia graminis u. a. Puccinia-Arten haben sich als heterothallisch erwiesen. Die Pyknosporen werden als Haplokonidien angesehen. Die Unterschiede der einzelnen Rassen liegen nicht nur in der abweichenden Pathogenität gegenüber den einzelnen Getreidesorten, sondern auch in dem Vermögen, Teleutosporen mehr oder weniger leicht zu bilden. Durch Kreuzungen einzelner Rassen untereinander und auch mit anderen Spezialformen entstehen neue Rassen, besonders leicht in der Haplophase, weniger „durch Mutation in der Dikaryophase“. Das Auftreten der Rassen ist nicht geographisch orientiert, in dieser Hinsicht bestehen auch keine Beziehungen zu den Nebenwirten und eine systematische Einteilung ist wegen der unter natürlichen Verhältnissen vorkommenden Übergänge der verschiedenen Spezialformen von einem Wirt auf einen solchen einer anderen Gattung schlecht möglich. Im Verlaufe der vielen vorliegenden Einzeluntersuchungen hat sich gezeigt, daß von den Beziehungen zwischen Rost und Wirt einerseits und den Einflüssen der Umweltfaktoren auf beide andererseits noch sehr vieles unklar ist, bzw. eine Menge Eigenschaften typisch individuell sind. So ist z. B. die Anfälligkeit der Getreidesorten gegen den gleichen Rost vom Lebensalter des Wirtes abhängig. Die Ansprüche an Feuchtigkeit und Temperatur bei der Keimung der Sporen sind von Fall zu Fall verschieden, die Temperatur beeinflußt auch das jahreszeitliche Auftreten des Schadpilzes. Ob das Mikroklima eine Rolle spielt, ist noch umstritten. Licht ist im allgemeinen ohne nennenswerten Einfluß, abgesehen von der speziellen Wirkung einzelner Spektralbereiche. Nicht zu unterschätzen ist der Ernährungszustand des Wirtes, K-Mangel bei viel N setzt die Resistenz herab, evtl. Befall durch andere Schädlinge usw. Die Überwinterung ist eine Frage des Klimas ebenso wie die Ausbreitung von Epidemien. Als Bekämpfungsmaßnahmen kommen chemische Mittel (S-Bestäubung) in Frage, ferner vorbeugende (Bekämpfung der Zwischenwirte) und schließlich als wichtigste und wirksamste der Anbau resistenter Sorten, deren Züchtung allerdings erst z. T. gelungen ist. Unklar ist noch die Physiologie der Resistenz. Am Schluß findet sich eine reichhaltige Literaturübersicht gerade der neueren Arbeiten bis Mitte 1936.

Skallau (Berlin).

Müller, Karl, Ein Vierteljahrhundert Bekämpfung der Reben-Peronospora (Plasmopara viticola). (Angew. Botanik. Bd. 19. 1937. S. 110—118.)

Während in dem Jahrzehnt 1908—1917 in Baden ein durchschnittlicher Ertrag von nur 14 hl Most je Hektar infolge des starken Auftretens der Peronospora geerntet wurde, stieg der Ertrag nach Einführung einer neuzeit-

lichen Schädlingsbekämpfung in dem Jahrzehnt 1918—1927 auf 27,8 hl/ha oder auf nahezu das Doppelte. Diese großen Erfolge wurden erzielt durch die Vorausbestimmung der Spritzzeitpunkte auf biologischem Wege und Verwendung des sog. Inkubationskalenders, der nun in 14. Auflage erschienen ist. Baden, mit einem ausgesprochen ozeanischen Klima in seinen wesentlichsten Weinbaugebieten, begünstigt die Entwicklung des Peronosporapilzes in besonderem Maße; infolgedessen ist verständlich, daß die neuzeitliche Peronosporabekämpfung von hier ihren Ausgang nahm. Viele Weinbauländer, auch außerhalb Deutschlands, haben sich die Inkubationskalender-Methode zur Vorausbestimmung des Spritzzeitpunktes ebenfalls zu eigen gemacht, um so merkwürdiger erscheint die Stellungnahme französischer Forscher hierzu. Nach ihnen sollen die Inkubationszeiten in Südfrankreich mit der Inkubationskurve nicht übereinstimmen. Verf. konnte aber das Unzutreffende dieser Annahme an Hand von Beispielen nachweisen. Mit der Inkubationskalender-Methode glückte es, eine erfolgreiche und wirtschaftliche Peronosporabekämpfung durchzuführen, deshalb findet diese biologisch begründete Bekämpfung, die nun in Baden ein Vierteljahrhundert angewandt wurde, wachsende Anerkennung. K. Müller (Freiburg i. Br.).

Kramer, O., Weinbau-Schädlingsbekämpfung im Jahre 1936 in Württemberg. (Wein u. Rebe. Bd. 19. 1937. S. 14—25.)

Die Peronospora, der Mehltau und Botrytis traten 1936 in Württemberg an den Reben außerordentlich stark auf. Von den Traubenwicklern hat in Württemberg nur der einbindige eine wirtschaftliche Bedeutung. Wichtig sind die Folgerungen, die Verf. aus dem Schädlingsjahr 1936 für die Praxis zieht. Mit brauchbaren Mitteln richtig und rechtzeitig bespritzte Reben blieben gesund. Es ist unwirtschaftlich, mit der Brühekonzentration über das angegebene Maß hinauszugehen. Nationalwirtschaftlich gedacht ist es sogar verwerflich. An Spritzungen einsparen zu wollen ist durchaus verfehlt. Auf die Arsenpräparate, vor allem zur Heuwurmbekämpfung, kann bis auf weiteres nicht verzichtet werden, aber auch Pyrethrum und Nikotin sind von Bedeutung, vor allem gegen den Sauerwurm; sofern nach dem 31. Juli gespritzt werden muß, sind sie sogar notwendig. Gegen Mehltau wirkten neben gemahlenem Schwefel auch flüssige Schwefelpräparate sehr gut. Deutscher Schwefel sollte aus nationalwirtschaftlichen Gründen bevorzugt werden. Gegen die Kräuselmilbe haben sich die Schwefelbrühen wesentlich wirksamer gezeigt als 6proz. Karbolineum als Winterbehandlung.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Mededeelingen van het Deli-Proefstation te Medan (Sumatra). Overzicht v. d. Ziekten en Plagen der Deli-Tabak in het jaar 1936. [Übersicht über die Krankheiten und Plagen des Deli-Tabaks im Jahre 1936.] 20 S.

Von den durch Pilze verursachten Krankheiten werden erwähnt:

Phytophthora nicotianae v. Br. d. H., Pythium spec., Rhizoctonia solani Kühn, welche nur geringen Schaden verursachten. Dagegen trat Cercospora nicotianae Ell. et Ev. (holl. „Spikkel") ziemlich allgemein auf.

Von den Viruskrankheiten steht die Mosaik-Krankheit an erster Stelle, und zwar übertrifft der Schaden denjenigen von 1934 und 1935.

Von den physiologischen Krankheiten wird besonders die Gipfeldürre (holl. „Topziekte") hervorgehoben, deren Auftreten demjenigen des vorigen Jahres gleichkommt. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Blattný, Ctibor, Über ein geeignetes Adhäsivum zu flüssigen Pflanzenschutzmitteln. (Das Weinland. Bd. 9. 1937. S. 20—21.)

Als Haftmittel für Pflanzenschutzmittel, um ein besseres Zerfließen der Flüssigkeit und längere Dauerhaftigkeit des Belages zu erreichen, verwendet man gewöhnlich Melasse, Zucker, entfettete Milch, Kasein, Schmierseife, Harzseife, Baumwollöl usw. Verf. macht auf alkalischen Knochenleim als Haftmittel aufmerksam, der in der Tschechoslowakei unter dem Namen „Spezielle Knochenleimgallerte" im Handel ist. Versuche mit Kupferkalkbrühe und Schwefelkalkbrühe jeweils mit und ohne Knochenleimgallerte-Zusatz zeigten eine bessere Haftfähigkeit der Brühe und geringere Verbrennungsschäden beim Zusatz des Haftmittels. Es läßt sich auch ohne weiteres zu Tabakextraktbrühen statt Schmierseife — die bekanntlich Reifeverzögerungen hervorruft — zusetzen und ebenso zu Pyrethrum- und Arsenbrühen. Durch die bessere Haftfähigkeit lassen sich 1—2 Bespritzungen einsparen. Da das Mittel sehr billig ist, kommt ihm jetzt schon eine nicht unerhebliche Bedeutung fur die Praxis zu, da die Hopfenbauern in der Tschechoslowakei nur noch unter Zusatz dieses Haftmittels die Hopfenpflanzen spritzen. Gleiche Vorteile bietet das Haftmittel für den Weinbau.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Reckendorfer, Paul, Soll Kupferkalkbrühe prophylaktisch angewendet werden? (Wein und Rebe. Bd. 18. 1936. S. 145—150.)

Bekanntlich wirkt die Kupferkalkbrühe, bei vorbeugender Bespritzung, auf den Peronosporapilz der Reben abtötend. Diese Giftwirkung erblickt man in einer geringen Löslichkeit des auf die Blätter gespritzten Kupferbelags in kohlensäurehaltigem Wasser. Das gelöste Kupfer verhindert dann die Keimung der Konidien. Verf. sucht nun auszurechnen, wieviel Cu im Laufe von 24 Std. bei normal gespritzten Reben je Quadratzentimeter Blattfläche wohl in Lösung gehen kann und kommt dabei zu 0,000001 g Cu. Nur im Verlauf einer prophylaktischen Behandlung mit Kupferkalkbrühe ist es möglich, auf den vor Infektionen zu schützenden Rebteilen entsprechende Kupfermengen anzuhäufen, die dann in ein- und mehrmaligen Kupferschüben wasserlösliches und somit als Gift wirksames Kupfer beim Auftreten des Pilzes bereitstellen. K. Müller (Freiburg i. Br.).

Branas, Jean, et Bernon, Georges, Recherches sur les poudres cupriques. (Revue de viticulture. T. 86. 1937. p. 367 ff.)

Über die Kupferstäubemittel, ihre Anwendung und Wirkung auf die Rebenperonospora lagen bisher noch wenig exakte Untersuchungen vor. Die Verff. unterscheiden zwischen einer Anfangswirkung gegen den Pilz und einer Reaktionswirkung. Unter der ersten verstehen sie die Menge Kupfer, die sich in neutralem (p_H 7) Wasser löst, ausgedrückt in % des Gesamtkupfergehalts. Zur Bestimmung wird eine bestimmte Menge des Kupferstäubemittels mit destilliertem Wasser mit p_H 7 eine halbe Stunde geschüttelt, dann zentrifugiert und das gelöste Kupfer bestimmt. Die Kupfermenge kann zwischen 0 und 100% schwanken. Die Reaktionswirkung wurde bei Wasser

von p_H 7—3,4 untersucht (Regenwasser weist meistens p_H 5,2 auf). Aus einem Kupferstäubemittel, das neben Talk 2,5% basisches Kupferkarbonat enthielt, schwankte das gelöste Cu zwischen 2,7% (Wasser p_H 7) und 3,6% (Wasser p_H 3,4).

Die Wirksamkeit der Kupferstäubemittel hängt von der Wasserlöslichkeit des zur Mittelherstellung verwendeten Kupfersalzes ab. Verwendet man dazu Kupfersulfat, so löst sich in neutralem Wasser (p_H 7) 72% des Kupfers, bei Verwendung von Kupferoxychlorid dagegen gar nichts. Ob das Kupferstäubemittel 2,5 oder 8% Cu (als Kupfersulfat) enthält, ist gleichgültig, weil beidemal nur 72% des Kupfers gelöst werden. Ganz verschieden ist dagegen die Kupferlöslichkeit je nach verwendetem Streckungsmittel (Trägerstoff). Am besten eignet sich u. a. Kaolin. Am wenigsten Cu wird gelöst bei Verwendung von Kalkhydrat oder kohlensaurem Kalk, im ersten Fall gleich 0%, im letzten gleich 5%. Offenbar wird in beiden Fällen das gelöste Kupfersulfat durch den Kalk zu wasserunlöslichen Verbindungen umgesetzt. Die Wirkung des Kupfers in den Kupferstäubemitteln hängt schließlich noch von der industriellen Herstellungsweise der Mittel ab. Ungeeignet ist ein Aufsaugen von Kupfersalzlösungen durch Streckmittel. So zeigen z. B. zwei Stäbemittel mit gleichem Gehalt an Cu (2,5%), bei welchen das eine gemahlenes $CuSO_4$ und Talk enthält eine Wasserlöslichkeit des Kupfers von 72%, beim anderen, bei welchem eine Kupfersulfatlösung aufgesaugt wurde, waren dagegen nur 10% Kupfer in Wasser löslich.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Balachonow, P. I., Die thermische Desinfektion der Setzlinge mit heißem Wasser. (Obst- u. Gemüsebauwirtschaft. Bd. 10. 1936. S. 12—13.) [Russisch.]

Die Anwendung der „thermischen Desinfektion" zur Schädlingsbekämpfung bei Stecklingen verschiedener Apfel-, Kirschen-, Pflaumen-, Pfirsich-, Himbeeren- und Erdbeerensorten verursachte eine bedeutende Verlangsamung der Pflanzenentwicklung. Eine Ausnahme davon machten nur einige Zierpflanzen (weiße Akazie u. ä.), deren Entwicklung durch die Behandlung mit heißem Wasser sogar stimuliert wurde. M. Gordienko (Berlin).

Thiem, H., Ergebnisse der gemeinsamen Versuche zur Prüfung künstlicher Nistgeräte für Vögel. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. 17. Jahrg. 1937. S. 37—41.)

Die seit 1931 an verschiedenen Stellen des Reiches durchgeführten Beobachtungen ergaben, daß Nisthöhlen und Nistkästen aus Holz von Staren und Meisen ohne Unterschied angenommen und mit Eiern belegt werden. Im Gesamtdurchschnitt haben die Sperlinge etwas mehr als 10% der Nistgelegenheiten beansprucht. Die Entwicklung der Jungstare verlief in Teilen Deutschlands während einiger Jahre in den Nisthöhlen weniger günstig als in den Nistkästen. Für die Bewertung scheinen nicht biologische, sondern mehr praktische und materiell-technische Gesichtspunkte zu sprechen.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Němec, A., Über den Einfluß des Krebsbefalles auf den Magnesiastoffwechsel der Kartoffelknolle. (Die Ernährung der Pflanze. Bd. 32. 1936. S. 413—416.)

Verf. stellte an Hand von Analysen krebsbefallener Kartoffelknollen fest, daß dabei die Aschengehalte unter den normalen, von Stutzer er-

mittelten Werten lagen. Besonders auffällig war die Differenz des Magnesiagehaltes in Prozenten der Asche. Weitere Analysen von Knollen krebsanfälliger und krebsfester Sorten zeigten, daß der Magnesiagehalt der Asche bei den krebsanfälligen und krebsbefallenen Kartoffelknollen eine einwandfrei fallende Tendenz aufweist, während in den Knollen krebsfester Sorten ungefähr der normale, von Stutzer angegebene Gehalt vorhanden war. Weitere Versuche müssen zeigen, ob es möglich ist, durch entsprechende Düngung den Magnesiagehalt der Kartoffelknolle zu variieren und ob sich dadurch die sorteneigentümliche Anfälligkeit bzw. Resistenz gegenüber dem Kartoffelkrebs verschieben läßt. H. Richter (Berlin-Dahlem).

Muller, H. R. A., Topsterfte van koffie. [Gipfeldürre bei Kaffee.] (Archief v. d. Koffiecultuur. Heft 4. 1936. S. 279—346, m. 32 Tab. u. 3 photogr. Abb.)

Die Ursache des Absterbens der von Gipfeldürre befallenen Kaffeebäume ist eine vom Verf. isolierte Rhizoctonia, welche als spec. nov. später beschrieben werden soll. Die durch den Pilz verursachten Krankheitserscheinungen, welche als Tracheomycose aufzufassen sind, werden ausführlich beschrieben. Der Pilz kann durch die Blätter in die Zweige und Stämme eindringen, was durch Impfversuche bewiesen wurde. Am schnellsten breitet sich die Krankheit nach dem Gipfel hin aus, nämlich ungefähr 54—64 cm in 5 Monaten gegen 32 cm in entgegengesetzter Richtung. Wichtig für die Verbreitung der Krankheit ist die Tatsache, daß der Pilz empfindlich ist für Temperaturen über 25° C, so daß die Krankheit nur in 300—400 m hochgelegenen Anpflanzungen auftritt; desgleichen die Eigenschaft, in abgeschnittenen kranken Teilen längere Zeit lebensfähig zu bleiben. Fruchtformen des Pilzes wurden an den befallenen Teilen nicht gefunden, nur Pseudosklerotien wurden beobachtet, welche bei der Infektion wahrscheinlich eine Rolle spielen.

Der durch die Krankheit erlittene Ernteverlust an roten Beeren beläuft sich auf 16,4—50,5%.

Die Bekämpfung der Krankheit ist u. a. möglich durch zeitiges Wegschneiden der befallenen Zweige und Verbrennen derselben, wodurch bessere Resultate erzielt wurden, als durch Anwendung von Fungiciden. Gegen die Krankheit immune Kaffee-Varietäten wurden zwar nicht gefunden, doch gibt es welche, bei denen die Zahl der befallenen Bäume 12% nicht übersteigt, z. B. C. arabica. Die Versuche hierüber werden fortgesetzt.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Lambert, E. R., and Crandrall, B. S., A seedling wilt of black locust caused by Phytophthora parasitica. (Journ. Agricult. Research. Vol. 53. 1936. p. 467—476.)

In den Sommermonaten 1933 und 1934 trat in einer Baumschule in Virginia eine bis dahin noch nicht beschriebene Welkekrankheit an Sämlingen von Robinia pseudacacia auf. Im Jahre 1934 wurden einige ähnliche Fälle in einer Baumschule in Nordkarolina, 1935 in einer anderen Baumschule desselben Staates und in Alabama beobachtet. Am meisten wurden von dieser Krankheit 1—3 Wochen alte Sämlinge betroffen. Von solchen kranken Sämlingen konnte Phytophthora isoliert werden, die als Phytophthora parasitica identifiziert wurde. Die Krankheit konnte durch Besprühen gesunder Sämlinge mit Schwärmsporen auf diese übertragen werden. Durch Kulturversuche konnte festgestellt werden, daß das Ausschlüpfen der Schwärmsporen, ihre Keimung und das Eindringen

in das Blatt innerhalb 4 Std. erfolgen kann, so daß schon eine kurze Regenperiode eine große Gefahr für die Verbreitung des Krankheitserregers darstellt. Durch Erhöhung der H-Ionenkonzentration des Bodens auf p_H 4,6 oder durch Bespritzen der Pflanzen mit Kupferkalkbrühe ist eine wirksame Bekämpfung der Krankheitserreger möglich. Verff. schlagen deshalb vor, zur Züchtung von Robinia pseudacacia Bodenflächen mit guter Entwässerungsmöglichkeit zu verwenden und die Bodenazidität auf annähernd p_H 5 zu halten. Bucksteeg (Berlin-Dahlem).

Bond, T. E. T., Phytophthora infestans (Mont.) Debary and Cladosporium fulvum Cooke on varieties of tomato and potato and on grafted solanaceous plants. (Ann. of Appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 11—29.)

Verschiedene Sorten von Kartoffeln, Tomaten und anderen Solanaceen wurden auf Anfälligkeit oder Widerstandsfähigkeit gegenüber Phytophthora infestans und Cladosporium fulvum untersucht. Der Phytophthora-Stamm befiel alle Kartoffelsorten, jedoch nur einige Tomatensorten. Umgekehrt wurden von Cladosporium fulvum nur Tomaten angegriffen, von denen sich einige wenige als widerstandsfähig erwiesen. Nachdem nun so verschieden anfällige bzw. widerstandsfähige Sorten der beiden Solanum-Arten ausgewählt worden waren, wurden von ihnen Pfropfbastarde hergestellt, wodurch keine Änderung der Anfälligkeit oder Widerstandsfähigkeit von Unterlage oder Pfropfreis erzielt wurde. Verf. schließt daraus, daß diese Eigenschaften entweder genotypische des Protoplasmas oder an einen Faktor gebunden sind, der nicht von der Unterlage ins Pfropfreis und umgekehrt wandern kann.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Muller, H. R. A., Het Phytophthora-voetrot van peper (Piper nigrum L.) in Nederlandsch Indie. [Die Phytophthora-Fußfäule von Pfeffer in Niederländisch-Indien.] (Mededeel. v. h. Inst. v. Plantenziekten. No. 88. 1936. S. 1—62, m. 7 photogr. Abb.)

Die Phytophthora-Fußfäule ist eine Krankheit, welche besonders auf Sumatra auftritt, daneben auch auf Java und Borneo. In den Pflanzungen kann die Krankheit geradezu verheerend auftreten. Sie äußert sich sowohl in einer Welke der Blätter wie in Krankheitserscheinungen am Stamm und an den Wurzeln, und schließlich in Flecken auf den Blättern. Die Blätter werden gelb und schlaff, oft ist die Blattspitze schwarz verfärbt, worauf die Blätter abfallen. Bei den Stämmen, welche mitunter dunkelgrün und zuletzt schwarz werden, ist das parenchymatische Gewebe braun bis schwarz verfärbt und zeigt Pilzfäden. Die Blattflecken werden nicht über 6 cm groß und zeigen abwechselnd hell- und dunkelbraun gefärbte konzentrische Kreise und einen grau verfärbten zentralen Teil. Dergleichen Blätter fallen leicht ab.

Die Untersuchung nach der systematischen Stellung des Pilzes führt zur Aufstellung einer neuen Varietät: Phytophthora palmivora var. piperis.

Die Verbreitung der Krankheit geschieht: 1. durch infizierte Erde; 2. durch Teile kranker Pflanzen; 3. durch mit Sporangien und Schwärmsporen verunreinigtes Wasser.

Die Bekämpfung kann sowohl direkt wie indirekt geschehen. Im ersten Falle hat sich das Sprühen mit 1% Bordeaux-Brühe, 2mal im Monat, be-

währt. Indirekte Bekämpfung ist möglich durch Anpflanzen von resistenten Varietäten, womit schon günstige Resultate erzielt worden sind.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Sartorius, O., Beobachtungen über die Primärinfektionen der Peronospora. (Wein-Rebe. Bd. 14. H. 4. 1933.)

Bei Musbach in der Pfalz ließ sich 1933 eine typische Ausbreitung der Peronospora an Reben unter dem Einfluß nördlicher Winde von den Primärinfektionsstellen aus in der Windrichtung feststellen. Verf. beschreibt 7 Fälle, die diese Ausbreitung näher erläutern. K. Müller (Freiburg i. Br.).

Kramer, O., Erfahrungen aus dem Peronospora-Jahr 1936. (Nachr. üb. Schädlingsbekämpfung. Bd. 12. 1937. S. 18—25.)

Im Jahre 1936 trat die Reben-Peronospora auch in Württemberg sehr stark auf, so daß dieses Jahr für die Praxis der Bekämpfung des Peronospora-Pilzes wertvolle Hinweise lieferte. Verf. faßt die wichtigsten Punkte, auf die der Winzer in Zukunft zu achten hat, zusammen; betont vor allem, wie man an der Verwendung von Kupfer sparen kann, ohne eine Peronospora-Gefahr heraufzubeschwören. K. Müller (Freiburg i. Br.).

Faes, H., et Staehelin, M., Le Coître de la vigne (Coniothyrium diplodiella) (Progrès agricole et viticole. T. 103. 1935. p. 108 ff., mit 1 Farbtaf.)

Die Weißfäule oder Hagelkrankheit, verursacht durch den Pilz Coniothyrium diplodiella, spielt in der französischen Schweiz, besonders im Gutedel-Anbaugebiete eine bedeutsame Rolle. Verff. geben in ihrer Veröffentlichung eine Zusammenstellung der bisherigen Kenntnisse über die Krankheit, verbunden mit neuen Untersuchungsergebnissen. Der Pilz bildet auf einer Beere bis zu 200 Pykniden mit rund 80 000 Sporen, so daß eine Traube mit 50 Beeren 4 Millionen Sporen erzeugt. Von der Weißfäule befallene, vertrocknete Trauben enthielten noch nach 15 jähr. Aufbewahrung keimkräftige Sporen. Böden aus Rebgebieten, die häufig Hagelschlägen ausgesetzt sind, sind mit Sporen des Pilzes erfüllt, dagegen stecken Böden aus dem Wallis, wo es so gut wie nie hagelt, die Beeren nicht an, weil sich eben hier die Weißfäule auch nicht zeigt. Der Pilz gedeiht bei 28° C am besten, er wächst aber auch schon bei 5°—34°. Vorbedingung für seine Entwicklung im Weinberg ist ein Hagelschlag, der die Beeren verletzt, deshalb entsprechen die Vorkommen der Weißfäule genau den Hagelgebieten. Ferner muß die Beere schon eine gewisse Reife, also eine gewisse Menge Zucker enthalten. In Zuckerlösungen mit einem Gehalt von 0,1—2% keimen die Pilzsporen leicht und können dann je nach den Witterungsverhältnissen des Jahres große Schäden anrichten. Die größte Gefahr für die Trauben besteht dann, wenn der Hagelschlag kurz nach dem Weichwerden der Beeren auftritt, also geringe Menge Zucker sich mit verh. großer Menge organ. Säure in der Beere paart. Eine Bekämpfung mit Kupferkalkbrühe ist gegen die Krankheit nicht erfolgreich. Das einfachste Mittel besteht deshalb in sofortiger Entfernung der verhagelten Beeren, damit sich die Krankheit nicht von diesen aus verbreiten kann. Andere geprobte Mittel gaben bisher keine durchschlagenden Erfolge. Eine Tabelle über die Sporenkeimung zeigt, daß z. B. bei 19—27° C 25% der Sporen nach 13 Std. gekeimt sind, bei denselben Temperaturen keimen 50% nach 18 Std. und 75% nach 22 Std.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Koudelka, H., Vorläufige Mitteilung über die Entstehung der Markkrankheit der Weinrebe. (Nachrichten über Schädlingsbekämpfung. Bd. 12. 1937. S. 25—35.)

Die Markkrankeit der Reben spielt in Südfrankreich und in Österreich eine nicht unbedeutende Rolle. Über die Krankheit wurde schon viel geschrieben, doch kennt man die Ursachen der Krankheitserscheinung noch wenig. Verf. isolierte aus markkranken Reben von Retz zwei Pilze A und B und zwei Bakterien I und II in Reinkultur. Mit dem Pilz A und dem Bakterium wurden Reben an Schnittflächen infiziert. Als Versuchspflanzen dienten Topfreben der Unterlagsrebe Riparia Portalis. Die infizierten Pflanzen fielen durch Wachstumshemmungen auf, die Blätter blieben klein und bleich, die Triebenden starben ab, besonders wenn Pilz und Bakterium zusammen in die Schnittwunden geimpft wurden. Das Mark besaß in der Höhe der Knoten eine schwarzbraune Verfärbung und pulverige Beschaffenheit. Wurde nur Bakterium I infiziert, war das Wachstum normal, doch zeigten die Blattspitzen schwarze Verfärbung und das Mark war ebenfalls dunkel gefärbt. Infizierte Reben, die sich trotz der Impfung gut entwickelten, zeigten eine vorzeitige Laubfärbung der Blätter. Die Versuche sind noch nicht abgeschlossen, sie sollen noch erweitert werden, um dem Problem der Bekämpfung der Markkrankheit näher zu kommen.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Zweigelt, F., Verfallserscheinungen am Rebstock. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz. Bd. 47. 1937. S. 11—18.)

In der Literatur findet man in letzter Zeit zahlreiche Aufsätze, die sich mit einer ihrem Wesen nach noch nicht geklärten Verfallserscheinung des Rebstocks befassen und diese Krankheit mit verschiedenen Namen belegen, wie Roncet, Arricciamento, Court-Noué, Gablerkrankheit, Reisigkrankheit, Markkrankheit usw. Verf., der sich in den letzten Jahren mit diesen, besonders an veredelten Reben auftretenden Krankheitserscheinungen, eingehend befaßt hat, gibt in der vorliegenden Arbeit einen Überblick über die mutmaßlichen Ursachen. Die Franzosen vermuten einen parasitären Pilz Pumilus medullae, andere ein krankhaftes Mark, ja selbst Erdstrahlen (!) sollen die Wachstumshemmungen bedingen. Die Zusammenhänge der Markerkrankung mit dem Absterben der Reben werden auf den Kalireichtum des Marks zurückgeführt, dem deshalb eine wichtige Funktion zukommen müsse, die gestört werde, wenn das Mark erkranke. Das Wahrscheinlichste ist allerdings, daß eine ungenügende Verwachsung der Pfropfreben, wahrscheinlich durch Wahl einer Unterlage mit geringer Affinität zum Edelreis, die Ursache des z. T. auffallend starken Eingehens von Pfropfreben darstellt. Bei den Sorten grüner Veltliner und Welschriesling ist die Krankheitserscheinung besonders auffallend. K. Müller (Freiburg i. Br.).

Moore, W. D., Powdery mildew (Erysiphe polygoni) on garden snap beans. (Phytopathology. Vol. 26. 1936. p. 1135—1144, 2 figs.)

Der Mehltau an Bohnen (Phaseolus) hat in den letzten Jahren in steigendem Maße Ausfälle im Südosten der Vereinigten Staaten verursacht. Die Krankheit zeigt sich vorwiegend bei der Ernte im Herbst. Sie tritt besonders auf nach leichten Regenfällen Ende September Anfang Oktober. Bei den Bekämpfungsversuchen bewährten sich am besten schwefelhaltige Spritz- und Stäubemittel. Am besten und wirtschaftlichsten war „Sulphur-

lime dust 175—25". Von den untersuchten 34 Sorten waren keine resistent, 12 leicht, 15 mäßig und 7 Sorten stark befallen.

Winkelmann (Münster i. W.).

Gaisberg, E. v., Über die Douglasien-Schütte in Württembergischen Douglasienbeständen mit Hinweis auf die bisher hier bekanntgewordene Verbreitung von Rhabdocline. (Forstl. Wochenschr. Silva. Bd. 25. 1937. S. 37 u. 45.)

Das Auftreten der Adelopus-Schütte in Württemberg wurde im Jahre 1934 aus dem südlichen Oberschwaben erstmalig gemeldet, jedoch schon 1931 beobachtet. In einzelnen Forstbezirken nimmt die Schädigung durch den Parasiten bedrohliche Ausmaße an. Nach einer Schilderung der Niederschlagsmengen und Windverhältnisse in den Jahren 1932—1934 gibt Verf.n eine Beschreibung der erkrankten Bestände der einzelnen Forstbezirke. Der Befall zeigt sich im allgemeinen an der Gebirgs- und auch an der schnellwüchsigen, grünen Küstendouglasie in 10—40jährigen Beständen. Die Mehrzahl der Bäume ist zwischen 20 und 30 Jahren alt. In einem stark befallenen Forstbezirk waren bis zu 90% der grünen Douglasien schüttekrank. Der Parasit vermag wahrscheinlich nicht nur in junge, sich entfaltende, sondern auch in ältere Nadeln einzudringen und dort mehrere Jahre zu wachsen. Nach einer Zusammenfassung der Erhebungen in den einzelnen Forstbezirken wird auf den Zeitpunkt der Askosporenbildung und die Ausbreitung der Adelopus-Schütte nach Norden eingegangen. Ebenso wie das Auftreten dieses Erregers wurde auch die Rhabdocline-Schütte 1934 erstmalig aus Württemberg gemeldet. Der Befall muß aber nach den Befunden bereits 1931 eingesetzt haben. Röder (Berlin-Dahlem).

Western, J. H., The biology of oat smuts. IV. The invasion of some susceptible and resistant oat varieties, including Markton, by selected biological species of smut (Ustilago avenae [Pers.] Jens and Ustilago Kolleri [Wille]). (Ann. of Appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 245—263.)

Morphologisch-anatomische Untersuchungen über den Infektionsvorgang mit zwei verschiedenen Formen von Ustilago avenae und das Myzelwachstum in widerstandsfähigen und anfälligen Hafersorten führten zu folgender Einteilung der widerstandsfähigen Sorten: 1. Die epidermale Zellschicht verhindert das Eindringen des Parasiten. 2. Durch Nekrose der infizierten Wirtszellen werden die nachfolgenden Zellschichten gegen ein weiteres Vordringen des Pilzes abgeriegelt. 3. Innerhalb der Wirtspflanze wird auf das Myzelwachstum ein verzögernder Einfluß ausgeübt.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Humphrey, H. B., and Coffmann, F. A., A study of the reaction of F_1 hybrids and their respective parental lines to inoculation with smuts and rusts. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 183—189.)

Bei den Versuchen der Verff. zeigte sich, daß Resistenz gegen Ustilago levis und U. avenae bei den F_1-Haferpflanzen dominant ist. Auch die Resistenz gegen Puccinia graminis avenae erwies sich im allgemeinen als dominant in der F_1-Generation. Versuche mit Puccinia coronata avenae ließen Schlüsse in bestimmter Richtung nicht zu. Winkelmann (Münster i. W.).

Christensen, J. J., Associations of microorganisms in relation to seedling injury arising from infected seed. (Phytopathology. Vol. 26. 1936. p. 1091—1105, 1 figs.)

Verf. konnte keine Unterschiede inbezug auf Keimung oder Grad der Schädigung bei Gerste feststellen, wenn das Saatgut, das von Helminthosporium oder Fusarium befallen war, in sterilisiertem oder nicht sterilisiertem Boden ausgesät wurde. Er schließt daraus, daß die Mikroflora des Bodens keinen Einfluß auf die Krankheitserreger, die mit dem Saatgut übertragen werden, hat. Das Einbringen von Trichoderma lignorum und verschiedenen anderen Pilzen und Bakterien in den Boden beeinflußte den Befall nicht. Auch das Eintauchen des Saatgutes in Extrakte von diesen Organismen wirkte sich in keiner Weise aus. Dagegen wurde durch Zufügen von Trichoderma lignorum, einiger Pilze und Bakterien zum Saatgut und zu sterilisiertem Boden, die künstlich mit Helminthosporium sativum infiziert waren, der Stand der Pflanzen verbessert, und die Zahl der befallenen Pflanzen vermindert. Durch Behandlung mit Ceresan oder New Improved Ceresan wurde der Stand der Pflanzen ebenfalls verbessert und der Befall herabgesetzt.

Winkelmann (Münster i. W.).

Meuli, L. J., Cladosporium leaf blotch of peony. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 172—182, 3 figs.)

In einigen Gegenden von Wisconsin tritt die durch Cladosporium paeoniae verursachte Blattfleckenkrankheit an Paeonien in den letzten Jahren stärker auf. Die Krankheitssymptome und das Verhalten des Pilzes in Kultur werden eingehend beschrieben. Infektionsversuche an Pflanzen im Gewächshaus und an abgeschnittenen Blättern gelangen. Am anfälligsten erwiesen sich die Sorten Oshkosh White, Felix Crousse und Livingstone. Weniger anfällig waren Augustin d'Hour, Mathilde de Roseneck, Luis Van Houtte, Edulis Superba und Jules Calot, während Gigantea und Humei Carnea vollkommen resistent waren. Für die Bekämpfung ist es wesentlich, daß in jedem Jahr die alten Blätter vernichtet und die Wurzeln in nicht infizierten Boden gepflanzt werden. Winkelmann (Münster i. W.).

Lacey, Margaret S., Studies in bacteriosis. XXII. 1. The isolation of a bacterium associated with „fasciation" of sweet peas, „cauliflower" strawberry plants and „leafy gall" of various plants. (Ann. of Eppl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 302—310.)

Aus hexenbesenartigen Triebbündeln, Verbänderungen, blumenkohlartigen und anderen verlaubten Wucherungen an verschiedenen Pflanzen wie Erbse, Nelke, Chrysanthemum usw. ließ sich immer ein Bakterium isolieren, das, in gesunde Pflanzen eingeimpft, dieselben Krankheitserscheinungen hervorrief. Das Bakterium, das kurz beschrieben wird, zeigt in mancher Beziehung Ähnlichkeiten mit Pseudomonas tumefaciens und Bact. radicicola. Bortels (Berlin-Dahlem).

Abgeschlossen am 11. August 1937.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 96 enthaltenen Arbeiten.

II. Namen- und Sachverzeichnis.

(Stichworte, die auf Originalarbeiten hinweisen, sind durch ein * gekennzeichnet.)

F. Mitzlaff, Hofbuchdruckerei Rudolstadt